

#2

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Koji HASHIMOTO, et al.

GAU:

SERIAL NO: New Application

EXAMINER:

FILED: Herewith

FOR: NUCLEIC ACID DETECTION SENSOR

REQUEST FOR PRIORITY

ASSISTANT COMMISSIONER FOR PATENTS  
WASHINGTON, D.C. 20231

Jc879 U.S. PTO  
09/26/249  
09/25/01

SIR:

- ☐ Full benefit of the filing date of U.S. Application Serial Number, filed, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.
- ☐ Full benefit of the filing date of U.S. Provisional Application Serial Number, filed, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e).
- ☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

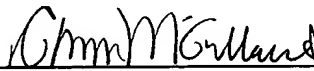
<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NUMBER</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	2000-301516	September 29, 2000

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

- ☒ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee
- ☐ were filed in prior application Serial No. filed
- ☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number .  
Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.
- ☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and  
(B) Application Serial No.(s)
  - ☐ are submitted herewith
  - ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Marvin J. Spivak  
Registration No. 24,913

C. Irvin McClelland  
Registration Number 21,124



22850

Tel. (703) 413-3000  
Fax. (703) 413-2220  
(OSMMN 10/98)

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2000年 9月29日

出願番号

Application Number:

特願2000-301516

出願人

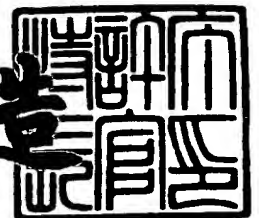
Applicant(s):

株式会社東芝

2001年 5月25日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3044912

【書類名】 特許願

【整理番号】 A000004194

【提出日】 平成12年 9月29日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/50

【発明の名称】 核酸検出用センサ

【請求項の数】 6

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株式会社東芝研究開発センター内

【氏名】 橋本 幸二

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株式会社東芝研究開発センター内

【氏名】 宮本 浩久

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株式会社東芝研究開発センター内

【氏名】 逸見 和弘

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県深谷市幡羅町一丁目9番地2号 株式会社東芝深谷工場内

【氏名】 鈴木 公平

【特許出願人】

【識別番号】 000003078

【氏名又は名称】 株式会社 東芝

【代理人】

【識別番号】 100058479

【弁理士】

【氏名又は名称】 鈴江 武彦

【電話番号】 03-3502-3181

【選任した代理人】

【識別番号】 100084618

【弁理士】

【氏名又は名称】 村松 貞男

【選任した代理人】

【識別番号】 100068814

【弁理士】

【氏名又は名称】 坪井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100092196

【弁理士】

【氏名又は名称】 橋本 良郎

【選任した代理人】

【識別番号】 100091351

【弁理士】

【氏名又は名称】 河野 哲

【選任した代理人】

【識別番号】 100088683

【弁理士】

【氏名又は名称】 中村 誠

【選任した代理人】

【識別番号】 100070437

【弁理士】

【氏名又は名称】 河井 将次

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011567

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書  
【発明の名称】 核酸検出用センサ  
【特許請求の範囲】

【請求項 1】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、前記核酸鎖固定化電極と対極とが対向位置に配置されていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項 2】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項 3】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッ

チング素子に接続された走査線とを具備し、かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して対極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項 4】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖又はターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸固定化電極と対極間の電圧の基準となる参照電極と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して参照電極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項 5】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記対極を接続し得る第二の信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッ

チング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して対極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項 6】 プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極間の電圧の基準となる参照電極と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記対極に接続された第二の信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して参照電極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、多種類の核酸を迅速、簡易、且つ高精度に検出することができる核酸検出用センサに関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、核酸検出用センサとして核酸鎖固定化アレイ（DNAアレイ）による遺伝子検査技術が注目を集めている（Beattie et al. 1993,



Fodor et al. 1991, Khrapko et al. 1989, Southern et al. 1994)。

【0003】

DNAアレイは、 $10^1 \sim 10^5$ 種類の配列が異なるDNA核酸鎖を固定化した、数cm角の硝子やシリコンのアレイからできており、アレイ上で蛍光色素や放射線同位元素(RI)等で標識した被験液遺伝子とを反応させるか、あるいは未標識の被験液遺伝子と標識オリゴヌクレオチドの混合物をサンドイッチハイブリダイゼーションで反応させる。被験液中にアレイ上のDNA核酸鎖と相補的な配列が存在すると、アレイ上の特定部位で標識に由来する信号(蛍光強度、RI強度)が得られる。固定化しておいたDNA核酸鎖の配列と位置があらかじめ分っていれば、被験液遺伝子中に存在する塩基配列を簡単に調べることができる。DNAアレイは、微量サンプルで塩基配列に関する多くの情報が得られることから、遺伝子検出技術に止まらずシーケンス技術としても大いに期待されている(Pease et al. 1994, Parinov et al. 1996)。

【0004】

核酸検出用センサに結合した核酸を検出する手法としては、蛍光検出法やRI強度検出法や電気化学的検出法等があるが、電気化学的手法はサンプル遺伝子の標識や複雑なシステムが不要であるため、システムの小型化が期待できるのみならず、電極を用いているので電気的な反応制御も容易に行うことが可能であるという利点を有する。

【0005】

とりわけ、電気化学的な手法を用いた核酸検出用センサの中でも、種類の異なるプローブ核酸鎖が固定された電極がX-Yマトリックス状に複数配置されたDNAアレイを構成するセンサは、多種類の核酸を僅かな時間で検出できる極めて有用な技術として期待されているが、多数の核酸鎖固定化電極に等しく電圧を印加しなければならないため、回路構成が複雑であり、応答速度や精度が十分でない等の問題点を有している。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、特定の塩基配列を有する核酸が存在するか否かを電気化学的に検出するための核酸検出用センサであって、多種類の核酸を高速、且つ高精度に検出することができる核酸検出用センサを提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】

前記課題を解決するために、第一の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、前記核酸鎖固定化電極と対極とが対向位置に配置されていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

【0008】

前記課題を解決するために、第二の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

【0009】

前記課題を解決するために本発明の第三の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出

用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的変化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的変化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して対極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

#### 【0010】

前記課題を解決するために、本発明の第四の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的変化を検出して前記プローブ核酸鎖又はターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸固定化電極と対極間の電圧の基準となる参照電極と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的変化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して参照電極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

#### 【0011】

前記課題を解決するために、本発明の第五の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するかどうかを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記対極を接続し得る第二の信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して対極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

#### 【 0 0 1 2 】

前記課題を解決するために、本発明の第六の核酸検出用センサは、

プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、被験液中のターゲット核酸鎖と前記プローブ核酸鎖とのハイブリダイゼーションによる前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を検出して前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するかどうかを検出する核酸検出用センサであって、

前記核酸検出用セルは、さらに

前記核酸鎖固定化電極と対極間の電圧の基準となる参照電極と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、

前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記対極に接続された第二の信号線と、

前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、

かつ一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線は一本であり、個々の核酸検出用セルにおいて一つの核酸鎖固定化電極に対して参照電極は一つ以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

【 0 0 1 3 】

【発明の実施の形態】

本発明は、被験液中のターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを電気化学的に検出するための核酸検出用センサに関する。

【 0 0 1 4 】

本発明の第一～第六の核酸検出用センサは、基本的には、核酸鎖固定化電極及び対極、さらに望ましくは参照電極を備えた核酸検出用セルを複数備える。本明細書において、「核酸検出用セル」とは、複数の核酸鎖固定化電極が配設された本発明の核酸検出用センサにおいて、各核酸鎖固定化電極と対極を備えてなる単位区画を意味する。

【 0 0 1 5 】

前記核酸鎖固定化電極には、被験液中のターゲット核酸鎖をハイブリダイズし得るようにプローブ核酸鎖が固定化されている。核酸鎖固定化電極は、本発明の核酸検出用センサにおいて、作用電極として機能する。なお、プローブ核酸鎖とは、核酸鎖固定化電極に固定化（結合化）された核酸鎖を指す。また、前記ターゲット核酸鎖は、前記プローブ核酸鎖に対して相補的な塩基配列を有し、前記プローブ核酸鎖とハイブリダイゼーション反応するものであって、かつ被験液中に含まれる核酸鎖を意味する。

【 0 0 1 6 】

また、前記対極は、本発明の核酸検出用センサにおいて、本発明の核酸鎖固定化電極との間に流れる電流を通すための補助電極として機能する。

【 0 0 1 7 】

本発明の核酸検出用センサは、必要に応じて、核酸鎖固定化電極と対極の間に印加される電圧の基準として、参照電極を一以上備え得る。

## 【 0 0 1 8 】

本発明の核酸検出用センサによってターゲット核酸鎖又はプローブ核酸鎖についての知見を得るには、核酸鎖を含む被験液の存在下で、前記核酸検出用セル内の核酸鎖固定化電極と対極との間に電圧を印加して、ターゲット核酸鎖とプローブ核酸鎖との間にハイブリダイゼーションを生じさせた後に、電極間に生じる電気化学的な変化を検知する。ターゲット核酸鎖がプローブ核酸とハイブリダイズすれば、電極間に電気化学的な変化が生じるので、該変化を検知すれば、プローブ核酸鎖又はターゲット核酸鎖が、特定の塩基配列を有するか否かを検出することができる。

## 【 0 0 1 9 】

本発明に係る核酸検出用センサでは、核酸鎖固定化電極に固定化させるプローブ核酸鎖として、既知の塩基配列を有する核酸鎖を用い、被験液中に前記プローブ核酸鎖とハイブリダイゼーション反応するターゲット核酸鎖が存在するか否かを検知してもよいし、核酸鎖固定化電極に固定化させるプローブ核酸鎖として未知の塩基配列を有する核酸鎖を用いて、被検液中に既知の塩基配列を有する核酸鎖を含有させ、被検液中に前記プローブ核酸鎖とハイブリダイゼーション反応するターゲット核酸鎖が存在するか否かを検知し、そこから前記未知の塩基配列を有するプローブ核酸鎖の配列に対する知見を得てもよい。

## 【 0 0 2 0 】

本発明の核酸検出用センサは、複数の核酸鎖固定化電極を有しており、典型的には、複数の核酸鎖固定化電極の各々には異なる種類のプローブ核酸鎖が固定化されているが、各セル毎に異なった検体を供給して一度に数検体の検査を行うために、同じ種類のプローブ核酸鎖を固定化してもよい。

## 【 0 0 2 1 】

各核酸検出用セルには、核酸鎖固定化電極が1個ずつ配設されているので、ターゲット核酸鎖が何れの核酸検出用セルにハイブリダイズしたかを調べることによって、ターゲット核酸鎖又はプローブ核酸鎖の配列についての知見が得られる。それ故、各核酸検出用セルは独立して動作するように、各セルの各核酸鎖固定化電極毎に電気信号を印加するためのスイッチング回路、デコーダ回路、又はタ

イミング回路と、各核酸鎖鎖固定化電極からの電気信号を出力する回路と、各核酸鎖鎖固定化電極からの電気信号を外部に出力する為のスイッチング回路を配置することが望ましい。

#### 【 0 0 2 2 】

各セルの各核酸鎖鎖固定化電極毎に電気信号を印加するための前記スイッチング回路等の回路には複数の走査線が接続されており、核酸鎖鎖固定化電極と信号線との間に配置されたトランジスタ、好ましくは薄膜トランジスタなどのスイッチング素子を閉じるための信号を与える。なお、本明細書において「信号線」とは、作用電極である核酸鎖鎖固定化電極からの電気的変化を伝導する導線を意味する。前記走査線からの信号によってスイッチング素子が閉じると核酸鎖鎖固定化電極に電圧が印加されて電気化学的な変化が生じ該変化が前記信号線中を伝導される。このような複数の電極の制御には、液晶の表示に用いられているマトリックス方式を用いることが望ましく、更にはMOSFETを用いたアクティブマトリックス方式であることが望ましい。また、MOSイメージセンサー型の走査回路も用いることが可能である。

#### 【 0 0 2 3 】

図1に、各核酸鎖鎖固定化電極毎に電圧を印加するための回路を備えた典型的な核酸検出用センサの構造を示す。図1の核酸検出用センサにおいて、各核酸鎖鎖固定化電極101に接続されたスイッチング素子103は、タイミング回路106から、走査線104を駆動するための走査線駆動回路107に順次信号が与えられることにより開閉する。スイッチング素子103が順次開閉すると、核酸鎖鎖固定化電極101と対極102（又は参照電極102）に電圧が印加されるので、核酸鎖鎖固定化電極101にハイブリダイズした核酸（図示せず）を電気化学的に検出できる。電気化学的な変化は、信号線105を介して信号検出回路109に伝達されて検出される。

#### 【 0 0 2 4 】

前記信号線は、図2に示されているように、スイッチング素子との交点以外は、絶縁材料で被覆することが好ましい。図2は、図1の核酸検出用センサ中の核酸検出用セル（点線の矩形）を、核酸鎖鎖固定化電極と対極とを横切るように、走

査線に平行に切断した場合の側面図である。図 2 では、絶縁基板 2 0 1 の上に、絶縁膜 2 0 2 で被覆された信号線 2 0 3、核酸鎖固定化電極 2 0 4 と、対極（又は 2 0 5）が配設されており、信号線 2 0 3 は、被験液に浸漬されるので、信号線 2 0 3 とスイッチング素子との交点（図示せず）との交点以外は絶縁膜 2 0 2 で被覆されている。

#### 【 0 0 2 5 】

絶縁材料で被覆された信号線、スイッチング素子、及び電極の配置は、図 2 の配置に限定されるものではなく、任意の配置であり得る。図 3 は、このような配置の一例であり、絶縁基板 3 0 1 の上に配設された核酸鎖固定化電極 3 0 2 と対極（又は参照電極） 3 0 3 の下に、それぞれスイッチング素子 3 0 4 及び 3 0 5 が置かれている。スイッチング素子 3 0 4 及び 3 0 5 は、それぞれ両側に存在する絶縁膜 3 0 6 及び 3 0 7 で被覆されている。図 3 のように、スイッチング素子を各電極の下に置けば、核酸鎖固定化電極と対極の上面に被験液 3 0 8 を添加しても信号線（図示せず）とスイッチング素子の接触部分が被験液 3 0 8 に接触しないので、絶縁性に優れている。図 4 の配置でも、図 3 と同様に各電極の下にスイッチング阻止が置かれているので絶縁性に優れているが、スイッチング素子が基板の裏面に露出する構造である点で、図 3 の配置とは異なる。

#### 【 0 0 2 6 】

各核酸鎖固定化電極毎に電圧を印加する場合、各核酸鎖固定化電極毎に参照電極を備えれば、核酸鎖固定化電極と参照電極間の未補償抵抗が減少して、測定精度が向上するので、各核酸鎖固定化電極毎に電位を制御することができるように、各核酸鎖固定化電極毎に参照電極を備えることが望ましい。

#### 【 0 0 2 7 】

核酸検出用セルを構成する各電極は、絶縁基板上に形成されることが望ましく、絶縁基板の材料は、例えば、ガラス、石英ガラス、シリコン、アルミナ、サファイア、フォスフェイト、炭化珪素、酸化珪素、窒化珪素、等の無機絶縁材料、又は、ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリイソブチレン、ポリエチレンテレフタレート、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセ



タール、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリスチレン、アセタール樹脂、ポリカーボネート、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラミン樹脂、スチレン・アクリロニトリル共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、シリコーン樹脂、ポリフェニレンオキサイド、ポリスルホン等の有機材料であり得るが、これらに限定されない。

## 【 0 0 2 8 】

絶縁基板上において、各電極、及び回路等は絶縁材料を介して分離されていることが望ましい。本発明で用いられる絶縁材料は特に限定されるものではないが、フォトポリマー、フォトレジスト材料であることが好ましい。レジスト材料としては、光露光用フォトレジスト、遠紫外用フォトレジスト、X線用フォトレジスト、電子線用フォトレジストが用いられる。光露光用フォトレジストには、主原料が環化ゴム、ポリけい皮酸、ノボラック樹脂があげられる。遠紫外用フォトレジストには、環化ゴム、フェノール樹脂、ポリメチルイソプロペニルケトン（PMIPK）、ポリメチルメタクリレート（PMMA）等が用いられる。また、X線用レジストには、COP、メタルアクリレートほか、薄膜ハンドブック（オーム社）に記載の物質を用いることができる、更に電子線用レジストには、PMMA等上記文献に記載の物質を用いることが可能である。ここで用いるレジストは100Å以上1mm以下であることが望ましい。フォトレジストで電極を被覆し、リソグラフィーを行うことで、面積を一定にすることが可能になる。これにより、プローブ核酸鎖の固定化量がそれぞれの電極間で均一になり、再現性に優れた測定を可能にする。従来、レジスト材料は最終的には除去するのが一般的であるが、核酸鎖固定化電極においてはレジスト材料は除去することなく電極の一部として用いることも可能である。この場合は、用いるレジスト材料に耐水性の高い物質を使用する必要がある。電極上部に形成する絶縁層にはフォトレジスト材料以外でも用いることが可能である。例えば、Si、Ti、Al、Zn、Pb、Cd、W、Mo、Cr、Ta、Ni等の酸化物、窒化物、炭化物、その他合金を用いることも可能である。これらの材料をスパッタ、蒸着あるいはCVD等を用いて薄膜を形成した後、フォトリソグラフィーで電極露出部のパターンニングを行い、面積を一定に制御する。

## 【0029】

前記絶縁基板上には、好ましくは $10^1 \sim 10^5$ の核酸鎖固定化電極が配置される。好ましい核酸鎖固定化電極の材料は金であるが、他の材料も使用可能であり、例えば、金の合金、銀、プラチナ、水銀、ニッケル、パラジウム、シリコン、ゲルマニウム、ガリウム、タングステン等の金属単体及びそれらの合金、あるいはグラファイト、グラシーカーボン等の炭素等、またはこれらの酸化物、化合物を用いる事ができる。これらの電極は、メッキ、印刷、スパッタ、蒸着などでも作製することができる。蒸着を行う場合は、抵抗加熱法、高周波加熱法、電子ビーム加熱法により電極膜を形成することができる。また、スパッタリングを行う場合は、直流2極スパッタリング、バイアスパッタリング、非対称交流スパッタリング、ゲッタスパッタリング、高周波スパッタリングで電極膜を形成することが可能である。ここで、電極に金を使用する場合は、金の結晶構造の(111)面の配向指数が重要である。配向指数はWilsonの方法により以下の式から求められる。

## 【0030】

$$\text{配向指数}(hkl) = I F(hkl) / I F R(hkl)$$

$hkl$  ; 面指数

$I F(hkl)$  ;  $(hkl)$  面の相対強度

$I F R(hkl)$  ; ASTMカードに記載されている標準金としての $I F(hkl)$

ここで核酸鎖検出用の核酸鎖固定化電極の場合は配向指数が1以上であることが求められ、更に配向指数が2以上であることが望ましい。配向性を高めるために、蒸着あるいはスパッタリング時に基板を加熱することも有効である。加熱温度は特に限定される物ではないが、 $50^\circ\text{C} \sim 500^\circ\text{C}$ の範囲であることが望ましい。配向性を制御することで、核酸鎖固定化量を均一に制御することが可能になる。また、ガラスなどの基板に金等の上記電極材料を蒸着、あるいはスパッタリングする場合には、基板と金との間にチタン、あるいはクロム、銅、ニッケル、これらの合金を接着層として単独あるいは組み合わせて介在させることで、安定な電極層を形成することが可能になる。

## 【 0 0 3 1 】

核酸鎖固定化電極の形状は、特に限定されるものではなく、図 5 ～ 7 に示したような形状であり得るが、図 6 及び図 7 の形状を用いれば、核酸固定化電極と対極（あるいは参照電極）との接触面積が大きいので有利である。図 5 ～ 7 は、核酸検出用セル（図 1 の点線の矩形）を拡大したものであり、図 1 の場合と同じように、核酸鎖固定化電極 5 0 1、6 0 1、及び 7 0 1 は、それぞれスイッチング素子 5 0 3、6 0 3、及び 7 0 3 を介して信号線 5 0 5、6 0 5、及び 7 0 5 に接続されている。対極（又は参照電極）5 0 2、6 0 2、及び 7 0 2 は、核酸鎖固定化電極 5 0 1、6 0 1、及び 7 0 1 の近傍に配置されている。

## 【 0 0 3 2 】

核酸鎖固定化電極へプローブ核酸鎖を固定化するには、電極表面の活性化を行うことが望ましい。活性化は硫酸溶液中での電位掃引で行うことが可能である。また、混酸、王水、等でも行うことができる。プローブ核酸鎖を構成する材料は特に限定されるものではないが、DNA、RNA、PNA、その他核酸類似体を用いることが可能である。

## 【 0 0 3 3 】

プローブ核酸鎖の固定化方法は特に限定されるものではない。例えば、プローブ核酸鎖に導入したチオール基と金との結合を利用すると簡単に行うことができる。その他、物理吸着、化学吸着、疎水結合、抱埋、共有結合等で固定化が可能である。また、ビオチン-アビジン結合やカルボジイミドなどの縮合剤を用いることもできる。これらの場合、あらかじめ電極表面を官能基を有する分子で修飾しておくことで、固定化を容易にすることができる。更に、電極表面への核酸および挿入剤等の非特異的な吸着を抑制するために、電極表面をメルカプトエタノール等のメルカプタンや、ステアリルアミンなどの脂質で被覆することが望ましい。

## 【 0 0 3 4 】

以下、一例として、金からなる核酸鎖固定化電極にプローブ核酸鎖を固定化する方法を述べる。電極は脱イオン水で洗浄後、活性化処理を行う。活性化には、0.1 ～ 1.0 mmol/L の硫酸溶液を用いる。この溶液中で、-0.5 ～ 2 V

(vs Ag/AgCl) の範囲で、 $1\text{ v/s} \sim 100000\text{ v/s}$  の範囲で電位を走査させる。これにより、電極表面はプローブ核酸鎖を固定化できる状態にまで活性化される。固定化に用いるプローブ核酸鎖には5' あるいは3' 末端をチオール基を導入しておく。チオール化したプローブ核酸鎖は、固定化直前までDTT等の還元剤の溶液に溶解しておき、使用直前にゲル濾過あるいは酢酸エチルによる抽出操作等でDTTを除去する。固定化は至って簡単であり、イオン強度0.01~5の範囲でpH5~10の範囲内の緩衝液中にプローブ核酸鎖を $1\text{ ng/ml} \sim 1\text{ mg/mL}$ の範囲になるように溶解し、活性化した直後の電極を浸漬する。固定化反応は、 $4 \sim 100^\circ\text{C}$ の範囲で10分から1晩程度行う。

## 【0035】

プローブ核酸鎖を固定化した後の電極は、核酸分解酵素（ヌクレアーゼ）が存在しない条件で保存し、できれば遮光して行うことが望ましい。しかし、短期的な場合はウェット状態で保存することが可能である。保存液の組成はハイブリダイゼーション反応を行う液の組成、Tris-EDTA緩衝液あるいは脱イオン水であることが望ましい。更に、保存温度は $4^\circ\text{C}$ 以下で、好ましくは $-20^\circ\text{C}$ であることが望ましい。また、プローブ核酸鎖を固定化した核酸鎖固定化電極を長期に保存する場合は、ドライ状態で保存することが望ましい。ドライにする方法は特に限定されないが、凍結乾燥、風乾等で行うことができる。気相は特に限定されないが、アルゴン等の不活性ガス、窒素、乾燥空気、あるいは真空状態であることが望ましい。

## 【0036】

電極には、それぞれに印やバーコードを付けておくと検査の操作性を上げることができる。

## 【0037】

電極上へのプローブ核酸鎖の固定化の際は、DNAスポットターやDNAアレイヤーと呼ばれる固定化装置を用いると比較的に容易にプローブ核酸鎖の固定化を行うことができる。この際、電極の表面を傷つけないために、インクジェット方式や静電方式のスポットターを用いることが望ましい。また、電極表面で直接核酸鎖の合成を行うことも可能である。

【 0 0 3 8 】

本発明の核酸検出用センサには、一以上の対極が配置される。単一の対極を配置する場合、複数の核酸鎖固定化電極は、単一の対極を共通して使用することになる。

【 0 0 3 9 】

対極は、核酸鎖固定化電極が配置された基板と同一の基板上に配置してもよいし、核酸鎖固定化電極が配置された基板とは異なる基板上に配置してもよい。

【 0 0 4 0 】

核酸鎖固定化電極に所望の電圧を負荷することができれば、核酸鎖固定化電極と対極との距離は特に限定されるものではないが、応答速度を早くするためには、例えば、1 c m以内の距離に配置することが好ましい。

【 0 0 4 1 】

対極と核酸鎖固定化電極との位置関係も特に限定されるものではないが、全ての核酸鎖固定化電極に等しい電圧を印加するために、対極は全ての核酸鎖固定化電極から等しい距離になるように配置することが好ましい。

【 0 0 4 2 】

対極に用いる材料も特に限定されるものではなく、核酸鎖固定化電極で用いられる材料を使用することが可能である。

【 0 0 4 3 】

本発明の核酸検出用センサに、参照電極を配置する場合、銀／塩化銀電極や水銀／塩化水銀電極などを参照電極として使用し得るが、他の任意の電極を使用し得る。

【 0 0 4 4 】

参照電極は、核酸鎖固定化電極と同じ基板に配置するのが一般的であるが、これ以外の部位に配置してもよい。

【 0 0 4 5 】

参照電極の形状は、特に限定されないが、測定精度を高めるために、表面積を大きくしつつ、且つ被験液の流れを阻害しない形状が好ましい。例えば、参照電極と核酸鎖固定化電極とが互いに噛み合ったくし型にすれば、このような条件に

適合する。

【0046】

本発明の第一～第六の核酸検出用センサは、核酸検出用システムを構成していることが望ましい。該システムは、複数の核酸検出用セルが形成された一つまたは複数の基板と、前記基板を保持するための密閉容器で、少なくとも一つ以上の送液のための開口部を有し且つ液体を貯留するための空間を有する容器と、外部機器へ接続するための端子を備えた構成を基本としている。

【0047】

該システム上には、電気信号を対極および核酸鎖固定化電極に印加する回路と、電気信号をそれぞれの対極およびそれぞれの核酸鎖固定化電極に印加するためのスイッチング回路と、各核酸鎖固定化電極からの電気信号を出力する回路と、各核酸鎖固定化電極からの電気信号を外部に出力する為のスイッチング回路と、電源、ポテンシオスタット、波形発生装置を備えることが望ましい。また、前記システムにはマトリックス上に配置された特定の位置のMOSFETスイッチング素子および核酸鎖固定化電極に電気信号を印加するためのデコーダ回路、スイッチング回路、タイミング回路、メモリー、A/Dコンバーター、波形発生装置、電源、ポテンシオスタット、電気信号検出回路、等の回路を一つのセンサ上に集積することが望ましい。

【0048】

核酸検出用システムには、核酸抽出機構、核酸精製機構、核酸増幅機構などを集積化することの可能である。これらの機構を備えた核酸検出用システムを用いれば、核酸の抽出、増幅、検出などの一連の操作を全て自動的に行うことができる。

【0049】

図8には、核酸検出用システムを構成し得る核酸検出用センサの一例が示されている。

【0050】

図8の核酸検出用センサは、複数の走査線801、走査線801と直行するように配置された信号線802、走査線801と信号線802の各交点に配設され

た薄膜トランジスタ等のスイッチング素子 8 0 3、スイッチング素子 8 0 3 に接続された核酸鎖固定化電極 8 0 4、各走査線 8 0 1 を駆動するための走査線駆動回路 8 0 5、及び各信号線 8 0 2 を駆動するための信号線駆動回路 8 0 6 が設置された第一の基板 8 0 7 と、対極 8 0 8 が設置された第二の基板 8 0 9 とを備える。なお、図 8 では、核酸鎖固定化電極は一つしか書かれていないが、実際には、隣接する二本の走査線と隣接する二本の信号線とに囲まれた各矩形中に一つの核酸鎖固定化電極が設置される。

#### 【 0 0 5 1 】

被験液中のターゲット核酸を検出するには、第一の基板 8 0 7 と第二の基板 8 0 9 の間に介在するスペースに前記被験液を注入した後、走査線駆動回路 8 0 5 からスイッチング素子 8 0 3 に駆動信号を与える。走査線駆動回路 8 0 5 から発せられた駆動信号は、走査線 8 0 1 を通ってスイッチング素子 8 0 3 に達し、核酸鎖固定化電極 8 0 4 と信号線 8 0 2 を電氣的に接続する。核酸鎖固定化電極 8 0 4 と信号線 8 0 2 が電氣的に接続されると、核酸鎖固定化電極 8 0 4 と対極 8 0 8 の間に電圧が印加され、核酸鎖固定化電極 8 0 4 にハイブリダイズしたターゲット核酸に挿入された挿入剤等の物質が酸化される。酸化によって発生した電流は、信号線 8 0 2 を通って、信号線 8 0 2 の一端に設けられたパッド 8 1 0 に達し、該パッド 8 1 0 に接続された電流検出用の外部機器によって検出、定量される。

#### 【 0 0 5 2 】

図 8 の核酸検出用センサは、核酸検知部 8 1 1、走査線駆動回路 8 0 5、信号先駆動回路 8 0 6 が一体となって第一の基板 8 0 7 上に形成されており、信号検出部を備えた核酸検出用システムに装着して使用される。

#### 【 0 0 5 3 】

図 8 には、参照電極が設けられていない形態の核酸検出用センサを示したが、図 9 に示したように、参照電極を設けることが好ましい。参照電極 9 0 5 は、図 9 の拡大図に示されているごとく、走査線 9 0 1 に電氣的に接続されており、スイッチング素子 9 0 3 を介して信号線と電氣的に接続された核酸鎖固定化電極 9 0 4 の近傍に設置される。図では、参照電極 9 0 5 は三本に分枝した各枝がくし

型の形状を有しており、同じ形状を有する核酸鎖固定化電極 905 とは互いに噛み合うように配置されている。

【0054】

図 10 には、本発明の核酸検出用センサが配置された核酸検出用システムの概略が示されている。

【0055】

図 10 は、核酸検出用センサ 1001、核酸検出用センサ固定装置 1002、電気信号測定装置 1003、CPU 1004、電源 1005、及び表示装置 1006 を備えた核酸検出用システム 1007 を示している。

【0056】

該システムにおいて、核酸検出用センサは、通常、図 11 のように、接続端子 1101 によって、挿脱可能に基板 1102 上に設置され、容器 1108 に収納される。基板 1102 は、図 12 のごとく、例えばその周囲に接続端子挿入部 1201 を有している。図 11 において、被験液 1103 は、核酸検出用センサ 1104 を浸漬せしめ得るように被験液排出口 1106 を閉鎖しながら、底部に設けられた被験液注入口 1105 から注入される。被験液 1103 によって核酸検出用センサ 1104 を浸漬せしめた後には、被験液 1103 に含まれる核酸を核酸検出用センサ 1104 上の核酸鎖固定化電極（図示せず）にハイブリダイズさせる。ハイブリダイズ中に加温するときには、気化した被験液は空気穴 1107 を通して排出される。被検液中にターゲット核酸が含まれていれば、該ターゲット核酸は、核酸検出用センサ 1104 上の核酸鎖固定化電極（図示せず）にハイブリダイズするので、被験液 1103 を被験液排出口 1106 から排出させた後にも核酸鎖固定化電極に結合し続ける。図 13 のように、被験液注入口 1305 及び被験液排出口 1306 は、基板 1302 の垂直な位置に設けてもよい。

【0057】

以下、本発明の核酸検出用センサを用いて被験液中のターゲット核酸鎖又はプローブ核酸鎖についての知見を得るための操作について詳述する。

【0058】

まず、核酸鎖固定化電極と対極との間に介在する空間中にターゲット核酸鎖を



含む被験液を注入する。

【0059】

検出するターゲット核酸鎖は、特に限定されず、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫等の核酸鎖や遺伝性疾患の原因遺伝子や各種疾病のマーカー遺伝子などであり得る。例えば、肝炎ウイルス（A、B、C、D、E、F、G型）、HIV、インフルエンザウイルス、ヘルペス群ウイルス、アデノウイルス、ヒトポリオーマウイルス、ヒトパピローマウイルス、ヒトパルボウイルス、ムンプスウイルス、ヒトロタウイルス、エンテロウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、HTLV、等のウイルス感染症、黄色ブドウ球菌、溶血性連鎖球菌、病原性大腸菌、腸炎ビブリオ菌、ヘリコバクターピロリ菌、カンピロバクター、コレラ菌、赤痢菌、サルモネラ菌、エルシニア、淋菌、リステリア菌、レプトスピラ、レジオネラ菌、スピロヘータ、肺炎マイコプラズマ、リケッチア、クラミジア、マラリア、赤痢アメーバ、病原真菌、等の細菌感染症、寄生虫、真菌の検出に用いることができる。また、遺伝性疾患、網膜芽細胞腫、ウィルムス腫瘍、家族性大腸ポリポーシス、遺伝性非ポリポーシス大腸癌、神経線維腫症、家族性乳ガン、色素性乾皮症、脳腫瘍、口腔癌、食道癌、胃ガン、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、肺ガン、甲状腺腫瘍、乳腺腫瘍、泌尿器腫瘍、男性器腫瘍、女性器腫瘍、皮膚腫瘍、骨・軟部腫瘍、白血病、リンパ腫、固形腫瘍、等の腫瘍性疾患の検査にも用いることができる。また、医療以外にも、食品検査、検疫、医薬品検査、法医学、農業、畜産、漁業、林業などで遺伝子検査が必要なものに全て適応可能である。更に、制限酵素断片多系（RFLP）や1塩基多系（SNPs）、マイクロサテライト配列等の検出も可能である。また、未知の塩基配列解析に用いることも可能である。

【0060】

これらのターゲット核酸を含有する被験液も特に限定される物ではなく、例えば、血液、血清、白血球、尿、便、精液、唾液、組織、培養細胞、喀痰等を用いることができる。これら被験液からは、通常核酸成分の抽出を行う。抽出方法は特に限定される物ではなく、フェノールークロロホルム法等の液-液抽出法や担体を用いる固液抽出法を用いることができる。また、市販の核酸抽出方法QI

Aamp (QIAGEN社製)、スマイテスト (住友金属社製) 等を利用することも可能である。

#### 【0061】

被験液を前記空間に注入した後には、抽出した核酸成分と核酸鎖検出用電極とでハイブリダイゼーション反応を行う。反応溶液は、イオン強度0.01~5の範囲で、pH5~10の範囲の緩衝液中で行う。この溶液中にはハイブリダイゼーション促進剤である硫酸デキストランや、サケ精子DNA、牛胸腺DNA、EDTA、界面活性剤などを添加することが可能である。ここに抽出した核酸成分を添加し、90℃以上で熱変性させる。核酸鎖検出用電極の挿入は、変性直後、あるいは0℃に急冷後に行うことができる。反応中は、攪拌、あるいは振とうなどの操作で反応速度を高めることもできる。反応温度は10℃~90℃の範囲で、また反応時間は1分以上1晩程度行う。ハイブリダイゼーション反応は電気化学的に制御が可能であり、核酸鎖固定化電極にプラス電位を印加することで従来数時間から数日必要であったものを数分に短縮することが可能である。一方、電極表面にマイナス電位を印加すると、非特異的な結合は除去できる。

#### 【0062】

ハイブリダイゼーション反応が終了したら、核酸鎖固定化電極の洗浄を行う。洗浄には、イオン強度0.01~5の範囲で、pH5~10の範囲の緩衝液を用いる。

#### 【0063】

洗浄後、電極表面に形成された二本鎖部分（プローブ核酸鎖とターゲット核酸鎖とのハイブリッド）に選択的に結合する挿入剤を作用させ、電気化学的な測定を行う。ここで用いられる挿入剤は特に限定される物ではないが、例えば、ヘキスト33258、アクリジンオレンジ、キナクリン、ドウノマイシン、メタロインターカレーター、ビスアクリジン等のビスインターカレーター、トリスインターカレーター、ポリインターカレーター等を用いることが可能である。メタロインターカレーターと呼ばれるルテニウム、コバルト、鉄などの金属錯体や、エチジウムブロマイド等の有機化合物、抗体、酵素などの生体高分子を用いることも可能である。

## 【 0 0 6 4 】

挿入剤の濃度は、その種類によって異なるが、一般的には  $1 \text{ ng/ml} \sim 1 \text{ mg/ml}$  の範囲で使用する。この際、イオン強度  $0.001 \sim 5$  の範囲で、 $\text{pH}$   $5 \sim 10$  の範囲の緩衝液を用いる。

## 【 0 0 6 5 】

核酸鎖固定化電極を挿入剤と反応させた後、洗浄し、電気化学的な測定を行う。電気化学的な測定は、3電極タイプ、すなわち参照電極、対極、作用電極、あるいは2電極タイプ、すなわち対極、作用電極で行う。測定では、挿入剤が電気化学的に反応する電位以上の電位を印加し、挿入剤に由来する反応電流値を測定する。この際、電位は定速で掃引するか、あるいはパルスで印加するか、あるいは、定電位を印加することができる。測定には、ポテンシostat、デジタルマルチメーター、ファンクションジェネレーター等の装置を用いて電流、電圧を制御する。得られた電流値を基に、検量線から標的遺伝子の濃度を算出する。

## 【 0 0 6 6 】

電気化学的な信号は、酸化還元電流変化、酸化還元電位変化、電気容量変化、抵抗変化、電気化学発光変化を指標にすることが可能である。これらの信号変化は挿入剤等の二本鎖核酸に特異的に結合する物質の併用により効果が促進される。

## 【 0 0 6 7 】

本発明の第一の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と、対極との間に被験液が流れるよう、核酸鎖固定化電極と対極とが対向配置されていることを特徴とする。

## 【 0 0 6 8 】

本発明の第一の核酸検出用センサと異なり、従来のDNAアレイを構成する核酸検出用センサでは、図14の3及び4に示されているように、既知配列を有するプローブ核酸鎖1402が固定化された複数の核酸鎖固定化電極1401と対極1404とが同一の基板1403上に配設され、被験液1406は、上記基板1403上を流れる構成であった。該配置では、対極1404と各核酸鎖固定化電極1402の距離が各核酸固定化電極1401毎に異なる。このような構成で

は、図中左端のように核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 と対極 1 4 0 4 との距離が遠くなる場合があり、応答速度が遅くなる。また、対極 1 4 0 4 と各核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 との距離が各核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 毎に異なるため、十分な測定精度を達成することもできない。

#### 【 0 0 6 9 】

これに対して、図 1 4 の 1 及び 2 に示した本発明の第一の核酸検出用センサでは、プローブ核酸鎖 1 4 0 2 が固定化された核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 と対極 1 4 0 4 は板状電極であり、被験液 1 4 0 6 を挟持し得るように対向して配置されている。該配置によれば、第一の基板 1 4 0 3 上の各核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 は全て、第二の基板 1 4 0 5 上の対極 1 4 0 4 から等しい距離で、且つ対極 1 4 0 4 の近傍に配置することができる。このため、このような配置で電極が配設された核酸検出用センサを用いれば、各核酸鎖固定化電極 1 4 0 1 上のプローブ核酸鎖 1 4 0 2 とハイブリダイズした被験液 1 4 0 6 中の検出すべきターゲット核酸全てに等しい電圧を印加することが可能となり、測定精度と応答速度が向上する。また、第一の基板 1 3 0 3 と第二の基板 1 3 0 5 の間に被験液 1 3 0 6 が注入されるので、必要な被験液の量を減らすこともできる。なお、図 1 4 の 1 は、第一の基板 1 4 0 3 の上に参照電極 1 4 0 7 が配置されていない核酸検出用センサを示しており、図 1 4 の 2 は、第一の基板 1 4 0 3 の上に参照電極 1 4 0 7 が配置されている核酸検出用センサを示している。

#### 【 0 0 7 0 】

本発明の第一の核酸検出用センサにおいて、核酸鎖固定化電極が絶縁基板上に形成されている場合、対極は、核酸鎖固定化電極とともに被験液を挟持するように、核酸鎖固定化電極が配置された基板とは異なる基板に配置される。

#### 【 0 0 7 1 】

対極と核酸鎖固定化電極との位置関係も特に限定されるものではなく、両電極を異なる基板に配置すればよいが、全ての核酸鎖固定化電極に等しい電極を印加するために対極はすべての核酸鎖固定化電極から等しい距離になるように配置することが好ましい。例えば、核酸鎖固定化電極が平面上に配置されているときには、対極は、前記平面と平行な平面上に配置すればよく、核酸鎖固定化電極が球

面上に配置されているときには、対極は、前記球面と同心の球面上に配置すればよい。

## 【 0 0 7 2 】

本発明の第一の核酸検出用センサにおいては、複数の核酸検出用セルを備えており、各セルには一以上の核酸鎖固定化電極が配置されているので、対極は一つの核酸鎖固定化電極に対して一つずつ設けてもよいが、複数の核酸検出用セル間で共通、つまり、例えば、複数の核酸鎖固定化電極に対して対極は一つであってもよい。

## 【 0 0 7 3 】

本発明の第一の核酸検出用センサに配置すべき対極の材料、核酸鎖固定化電極との距離は上述のとおりである。

## 【 0 0 7 4 】

本発明の第一の核酸検出用センサに参照電極を配置する場合、核酸固定化電極と同じ基板に配置するのが一般的であるが、これ以外の部位に配置してもよい。

## 【 0 0 7 5 】

参照電極も、一つの核酸鎖固定化電極に対して一つずつ設けてもよいし、複数の核酸検出用セル間で共通としてもよい。

## 【 0 0 7 6 】

本発明の第一の核酸検出用センサに配置すべき参照電極の材料、形状などは上述のものを使用し得る。

## 【 0 0 7 7 】

本発明の第二の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、前記セルは、さらに前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された一本の信号線と、前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備する。略言すれば、本発明の第二の核酸検出用センサは、セル当たりにより一本の信号線を備え、配線数が減少したことを特徴とする。

## 【 0 0 7 8 】

本発明の第二の核酸検出用センサにおいて、核酸鎖固定化電極は、前記各セル毎に一以上配置されるが、対極は、各核酸鎖固定化電極に共通であってもよく、各核酸検出用セル毎に配置してもよい。対極を複数配置する場合には、対極は、前記信号線又は走査線の何れかにも接続し得る。従来の核酸検出用センサは配線の構造が複雑であったため、複数の対極を配設することが困難、又は不可能であったが、本発明の第二の核酸検出用センサは配線の構造が簡易なので、核酸検出用セル毎に複数の対極を備えることができる。

## 【 0 0 7 9 】

本発明の第二の核酸検出用センサは、必要に応じて、各核酸鎖固定化電極毎に、又は各核酸鎖固定化電極に共通の参照電極を備え得る。

## 【 0 0 8 0 】

核酸鎖固定化電極、対極、及び参照電極の材料、測定のための操作などは、上述した本発明の核酸検出用センサの一般的な構成及び使用法に記載されており、プローブ核酸鎖とターゲット核酸鎖との間で形成されたハイブリッド核酸鎖による電気化学反応を利用することにより、前記プローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出するものである。

## 【 0 0 8 1 】

本発明の第二の核酸検出用センサでは、図 1 5 のような従来の回路（米国特許第 5 9 6 5 4 5 2 号）に比べて核酸検出用セル当りの信号線の本数が一本減少した回路を用いるので、構造が簡易であり、複数の電極を高密度に配設することが可能となる。近年、数多くの遺伝子が同定され、核酸検出用センサで測定すべき核酸の種類は、非常に増加しているので、単位面積当りの配線数を減らして核酸検出用セルの密度を増加させ得ることは非常に有用である。

## 【 0 0 8 2 】

以下、本発明の第二の核酸検出用センサと従来の回路との差異について説明する。

## 【 0 0 8 3 】

図 1 5 に示した従来の回路は、反転入力端子に参照電極 1 5 0 3 が接続されたオペアンプ 1 5 0 8 からなるフィードバック回路を有しているので、核酸鎖固定

化電極 1 5 0 1 と対極 1 5 0 2、及び核酸鎖固定化電極 1 5 0 1 と参照電極 1 5 0 3 どの間にかかる電圧を一定に保つことができる。該回路中のオペアンプ 1 5 0 8 は負帰還を有しているので、参照電極 1 5 0 3 の電位はコモンの電位と等しく、核酸鎖固定化電極 1 5 0 1 の電位はアースの電位と等しいため、核酸鎖固定化電極 1 5 0 1 と参照電極 1 5 0 3 の間には、電源電圧と正確に等しい電圧が印加される。しかしながら、従来の回路では、電圧を印加するための回路と電流を検出するための回路が異なるため、核酸検出用セル当たりに計三本の配線（二本の信号線（図 1 5 では、信号線 1 5 0 4 と信号線 1 5 0 5）と一本の走査線 1 5 0 7）を配置しなければならず、回路の構造が複雑とならざるを得ない。図 1 5 の回路においてスイッチング素子 1 5 0 4 は、走査線 1 5 0 7 が通電されたときに、核酸鎖固定化電極 1 5 0 1 が信号線 1 5 0 6 と電氣的に接続されるようにする役割を有する。

## 【 0 0 8 4 】

これに対して、本発明の第二の核酸検出用センサでは、例えば、微小電流測定用ポテンショスタット回路を使用することにより、従来の核酸検出用センサに比べて減少した配線数を有するにもかかわらず、従来の核酸検出用センサと同等ないしそれ以上の測定精度を達成することができる。

## 【 0 0 8 5 】

本発明の第二の核酸検出用センサで使用される回路は、例えば、図 1 6 に示されているものである。この回路は、それぞれコントロールアンプ、ボルテッジフロアアンプ、カレントフロアアンプの機能を有する 3 つのオペアンプを備えていることを特徴とする。これらの回路は、微小電流測定用という点で従来の回路とは異なっている。それ故、本発明の核酸検出用センサに使用し得るポテンショスタット回路は微小電流測定用であればよく、図 1 6 のものに限定されない。参照電極を使用しないときには、ボルテッジフロアアンプはなくてもよい。

## 【 0 0 8 6 】

本発明の第二の核酸検出用センサに使用し得るポテンショスタット回路を例示した。図 1 6 には、簡単のために、核酸鎖固定化電極が一つしか描かれていないが、実際には、複数のセル毎に核酸鎖固定化電極が配置される。図 1 6 の回路は

、対極と参照電極が全ての核酸鎖固定化電極において共通に使用される回路であるが、一以上の対極を配置し、さらに、必要に応じて一以上の参照電極が配置してもよい。

【0087】

図16のポテンショスタット回路の作用は、以下の実施例2で詳述する。

【0088】

本発明の第三の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、前記セルは、さらに前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された一本の信号線と、前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の対極が設けられている。略言すれば、本発明の第三の核酸検出用センサは、セル当たり一本の信号線を備え、配線数が減少していることと、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の対極が設けられた構造であるために、共通の対極を有する核酸検出用センサに比べて向上した感度を有することとを特徴とする。

【0089】

本発明の第三の核酸検出用センサは、信号線が一本である点で、本発明の第二の核酸検出用センサと共通する。従って、本発明の第二の核酸検出用センサに使用し得る回路（上記図16の回路など）は、各核酸鎖固定化電極毎に一以上の対極を設けるように変更すれば、全て本発明の第三の核酸検出用センサに転用し得る。

【0090】

本発明の第四の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用を複数備え、さらに、前記核酸鎖固定化電極毎に一以上設けられた参照電極を具備し、前記セルは、前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された一本の信号線と、前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備する。略言すれば、本発明



の第四の核酸検出用センサは、セル当たり一本の信号線を備え、配線数が減少していることと、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の参照電極が設けられた構造であるために、参照電極が設けられていない、あるいは共通の参照電極が設けられた核酸検出用センサに比べて向上した感度を有することとを特徴とする。

## 【 0 0 9 1 】

本発明の第四の核酸検出用センサは、信号線が一本である点で、本発明の第二の核酸検出用センサと共通する。従って、本発明の第二の核酸検出用センサに使用し得る回路（上記図 1 6 の回路など）は、各核酸鎖固定化電極毎に一以上の参照電極を設けるように変更すれば、全て本発明の第四の核酸検出用センサに転用し得る。

## 【 0 0 9 2 】

本発明の第四の核酸検出用センサに使用し得る回路の例を図 1 7 に示す。図 1 7 では、参照電極は、核酸鎖固定化電極に隣接するように、作用線に接続されている。図 1 7 では、簡単のために、核酸鎖固定化電極と参照電極は、一つずつしか書かれていないが、本発明の第四の核酸検出用センサにおいては、複数の両電極の対が配置されている。

## 【 0 0 9 3 】

図 1 7 のポテンショスタット回路の作用の詳細は、実施例 3 に詳述されている。

## 【 0 0 9 4 】

本発明の第五の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と対極とを備える核酸検出用セルを複数備え、前記セルは、前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、前記対極を接続し得る第二の信号線と、前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の対極が設けられている。略言すれば、本発明の第五の核酸検出用センサは、セル当たり二本の信号線を備えることと、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の対極が設

けられた構造であるために、共通の対極を有する核酸検出用センサに比べて向上した感度を有することを特徴とする。

## 【 0 0 9 5 】

さらに、本発明の第五の核酸検出用センサは、対極を接続するための信号線を有するので、このような信号線を有しないセンサとは異なり、対極を走査線に接続しなくてもよい。対極が信号線に接続されれば、参照電極の基準電位は、走査線の電位と兼ねておらず、印加する電位を自由に設定できるので、本発明の第五の核酸検出用センサでは、多種類の挿入剤を使用することができる。

## 【 0 0 9 6 】

本発明の第五の核酸検出用センサに使用し得る回路は、例えば、後記第六の核酸検出用センサに使用し得る図 1 8 の回路において、図の参照電極の位置に対極を配し、図の対極を除去したものであり得る。

## 【 0 0 9 7 】

本発明の第六の核酸検出用センサは、核酸鎖固定化電極と対極とを備えた核酸検出用セルを複数備え、さらに、前記核酸鎖固定化電極毎に一以上設けられた参照電極を具備し、前記セルは、前記核酸鎖固定化電極と対極上の電気化学的变化を伝導するためにスイッチング素子を介して前記核酸鎖固定化電極に接続された第一の信号線と、前記参照電極を接続し得る第二の信号線と、前記スイッチング素子を開閉するための電気信号を伝導するために前記スイッチング素子に接続された走査線とを具備し、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の対極が設けられている。略言すれば、本発明の第六の核酸検出用センサは、セル当たりに二本の信号線を備えることと、一つの核酸鎖固定化電極に対して一以上の参照電極が設けられた構造であるために、参照電極を有しない、又は共通の参照電極を有する核酸検出用センサに比べて向上した感度を有することを特徴とする。

## 【 0 0 9 8 】

さらに、本発明の第六の核酸検出用センサでは、核酸検出用セルに信号線が二本配置されており、参照電極を信号線に接続することができる。参照電極の基準電位は、走査線の電位と兼ねておらず、印加する電位を自由に設定できるため、本発明の第六の核酸検出用センサでは、一本の信号線しか有しないセンサに比べ

て多種類の挿入剤を使用することができる。

【0099】

本発明の第六の核酸検出用センサに使用し得るポテンショスタット回路は、図18に示されており、以下の実施例4において詳述されている。

【0100】

以下、本発明の実施例を図面を参照しながら説明する。

【0101】

[実施例1]

本実施例では、図19～22を参照しながら、対極が各核酸鎖固定化電極に対向して配置された本発明の第一の核酸検出用センサについて説明する。

【0102】

図19は、本実施例の核酸検出用センサの上面図であり、4×3のX-Yマトリックス状に、プローブ核酸鎖（図示せず）が固定化された核酸鎖固定化電極1901が配置されている。実際の核酸検出用センサでは、対極は、核酸鎖固定化電極1901が配置された平面の鉛直上方に位置しているが、図19では省略されている。

【0103】

各核酸鎖固定化電極1901は、対極とともに核酸検出用セル（図中、点線の矩形）を形成している。

【0104】

各核酸鎖固定化電極1901は、トランジスター等のスイッチング素子1902を介して信号線1903とつながっており、信号線1903はさらに核酸鎖固定化電極1901からの電流を増幅するためのアンプ1904及びA/Dコンバーター1905に接続されている。

【0105】

スイッチング素子1902には、走査線1906を介してタイミングパルス発生器1909からクロック信号が与えられるので、核酸鎖固定化電極1901は、図中矢印の方向に左端から一列ずつ順次アクティブとなるように走査される。図のカウンタ1908及びXデコーダ1907は信号線のON-OFFを制御す

る役割を果たしている。核酸鎖固定化電極 1 9 0 1 がアクティブとなると、核酸鎖固定化電極 1 9 0 1 と対極（図示せず）との間に電圧が印加され、核酸鎖固定化電極 1 9 0 1 上にハイブリダイズしたターゲット核酸に挿入された挿入剤が酸化される。酸化時に生じた電気的变化は、信号線 1 9 0 3 を介して前記アンプ 1 9 0 4 で増幅された後、A/Dコンバーター 1 9 0 5 によりA/D変換される。

## 【 0 1 0 6 】

図 2 0 は、本発明の第一の核酸検出用センサの別の実施態様である。図 2 0 の核酸検出用センサは、行方向にもスイッチング素子が配置され、図中上から下にも走査される点が、図 1 9 の核酸検出用センサと異なっている。

## 【 0 1 0 7 】

図 2 0 において、核酸鎖固定化電極 2 0 0 1 は、4 × 3 の X - Y マトリックスに配置されており、各核酸鎖固定化電極 2 0 0 1 と対極（図示せず）とが核酸検出用セルを構成している。

## 【 0 1 0 8 】

図 1 9 の核酸検出用センサにおいても、対極は、各核酸鎖固定化電極 2 0 0 1 の鉛直上方に核酸鎖固定化電極と対向するように配置されているが、図 2 0 では省略されている。

## 【 0 1 0 9 】

各核酸鎖固定化電極 2 0 0 1 は、アンプ 2 0 0 2 及び電極スイッチング素子 2 0 0 3 を介して信号線 2 0 0 4 とつながっている。各信号線 2 0 0 4 の一端には、信号線スイッチング素子 2 0 0 5 が接続されており、その後信号線 2 0 0 4 は一つになり、A/Dコンバーター 2 0 0 6 に接続されている。

## 【 0 1 1 0 】

電極スイッチング素子 2 0 0 3 には、Xデコーダ 2 0 0 7 とカウンタ 2 0 0 8 により構成される列方向走査回路から、順次左端から電気信号が与えられる。一方、信号線スイッチング用素子 2 0 0 5 には、Yデコーダ 2 0 0 9 とカウンタ 2 0 1 0 により構成される行方向走査回路から、順次図の上から電気信号が与えられる。

## 【 0 1 1 1 】

図 2 1 のように、タイミングパルス発生器 2 0 1 1 から生成されるクロック信号を、それぞれ X 方向クロック信号、Y 方向クロック信号として列方向走査回路と行方向走査回路に与えれば、一列一行目の電極（左上端の電極）から一列二行目の電極、さらに一列三行目、二列一行目の電極に電圧が印加される。電圧の印加によって生じた電気的变化はシリアル信号として計測され、出力信号は A/D 変換機で A/D 変換される。

## 【 0 1 1 2 】

図 2 0 の核酸検出用センサでは、順次行方向からの電気信号を検出するために、デコーダとカウンタにより構成される走査回路を用いた核酸検出用センサを示したが、図 2 2 に示すようにデコーダとカウンタは、シフトレジスタ回路 2 2 1 0 に置き換えることができる。図 2 2 の核酸検出用センサの構成は、デコーダとカウンタがシフトレジスタ回路に置き換えられていることを除いて図 2 0 のものと同じである。シフトレジスタ回路を用いると、外部回路構成が簡単になる。

## 【 0 1 1 3 】

図 2 0 及び図 2 2 に示した核酸検出用センサは、図 1 9 に示した核酸検出用センサと比較して、測定を高速化し得るという効果を奏する。

## 【 0 1 1 4 】

本実施例に記載の第一の核酸検出用センサを用いれば、減少した被験液の量で、多種類の核酸を迅速且つ簡便に、高い精度で測定することができる。

## 【 0 1 1 5 】

## 〔実施例 2〕

本実施例では、図 1 6 を参照しながら、本発明の第二の核酸検出用センサの実施態様について説明する。

## 【 0 1 1 6 】

本実施例の核酸検出用センサは、絶縁基板上に図 1 6 のポテンショスタット回路を備える。簡単のために、図 1 6 のポテンショスタット回路には核酸鎖固定化電極が一つしか描かれていないが、実際には、本実施例の核酸検出用センサには複数の核酸鎖固定化電極が配設されている。

## 【 0 1 1 7 】

以下、本実施例の核酸検出用センサに使用される図16の回路の機能について詳述する。

【0118】

図16に示された回路は、それぞれコントロールアンプ、ボルテッジフロアアンプ、カレントフロアアンプとして機能するオペアンプ1607、オペアンプ1608、及びオペアンプ1609を備えたポテンショスタット回路を有するので、図15の従来の回路と同様の印加電圧調節機能を保持しつつ、核酸検出用セル当たりの配線数が減少している。

【0119】

図16の回路中の各オペアンプの機能は以下のとおりである。

【0120】

オペアンプ1607は、反転増幅器の一部を成しており、対極1602に $e_f$ （ここで $e_f$ とはコモンの電位を基準としたときの点fの電位を意味するものとする、以下同じ）の $(1 + Z_f / R_f)$ 倍の電圧を加えることによって、 $e_f$ を $e_a$ に対して一定に保つ（ここで、 $Z_f$ は、対極1602から参照電極1603に至る電気化学系のインピーダンスを表す）。オペアンプは、負帰還を有しているので、 $e_a$ は $e_b$ （コモンの電位）と等しい。図では、コモンは接地されているが、必ずしも接地しなくてよい。

【0121】

オペアンプ1608は、入力電力を $Z_{in} / Z_{out}$ 倍に増幅する機能を有している（ $Z_{in}$ 及び $Z_{out}$ は、それぞれ入力インピーダンス及び出力インピーダンスである）。 $Z_{in}$ は $Z_{out}$ に比べて非常に高いので、出力電力は入力電力に比して著しく大きくなる。オペアンプ1608の機能によって、参照電極1603の内部抵抗は無視できることになる。

【0122】

オペアンプ1609も負帰還を有しているので、 $e_g$ は $e_h$ に等しく、それ故、スイッチング素子1604によって核酸鎖固定化電極1601が信号に接続されると、核酸鎖固定化電極1601の電位はコモンの電位と等しくなる。従って、オペアンプ1609は、作用電極である核酸鎖固定化電極1601の電位をコ

モンの電位に保つ役割を果たしている。入力電圧を  $V$  とすると、点  $0$  と点  $a$  間の抵抗（図示せず）及び点  $a$  と点  $f$  間の抵抗の比を  $1$  にすれば、オペアンプ  $1607$  の作用により、参照電極  $1603$  の電位は、 $-V$  となる。回路中の抵抗の抵抗値、及び抵抗の使用の有無は、所望の増幅率等に応じて適宜選択すればよい。核酸鎖固定化電極  $1601$  の電位はコモンの電位に等しいから、核酸鎖固定化電極  $1601$ （作用電極）と参照電極  $1603$  との間には、正確に入力電圧と等しい電圧が印加される。点  $g$  が仮装接地されているため、走査線  $1606$  に接続されたスイッチング素子  $1604$  によって核酸鎖固定化電極  $1601$  に電圧を印加することによって生じる電流は、信号線  $1605$  上の点  $g$  から抵抗  $1610$  を経て点  $i$  に達する。抵抗  $1610$  による電圧降下を測定することによって、電流の大きさを測定することができる。

## 【0123】

点  $g$  と点  $j$  の間に抵抗  $1610$  を置くと、抵抗の両端の電位差によって核酸鎖固定化電極  $1601$  の電位に誤差が生じるが、点  $g$  と点  $i$  の間に抵抗  $1610$  を置いても、 $e_g$  はコモンの電位に保たれているため、核酸鎖固定化電極  $1601$  の電位に誤差は生じず、高精度の電気化学的測定が可能となる。

## 【0124】

図  $16$  の回路中の信号線は、図  $15$  の回路とは異なり信号線  $1605$  一本だけであることに注目されたい。

## 【0125】

図  $16$  の回路には、参照電極が描かれているが、場合によっては参照電極を使用しないこともできる。しかしながら、十分な精度を得るために、通常、参照電極を使用することが必要であろう。参照電極を使用するときには、各核酸鎖固定化電極毎に配置することが好ましいが、全ての核酸鎖固定化電極に共通であってもよい。参照電極を使用しないときには、参照電極の内部抵抗や参照電極の劣化は問題とならないので、ボルテッジフォロワとして機能するオペアンプは省略することができる。

## 【0126】

本実施例で詳述した回路は、参照電極を配設せず、且つ各核酸鎖固定化電極毎

に一以上の対極を設けるように変更することにより、本発明の第三の核酸検出用センサに転用し得る。

【 0 1 2 7 】

〔実施例 3〕

本実施例では、図 1 7 を参照しながら、本発明の第四の核酸検出用センサの実施態様について説明する。

【 0 1 2 8 】

図 1 7 の回路は本実施例の核酸検出用センサに使用されるポテンショスタット回路であり、図 1 7 の回路と同様に電圧を一定に保つ機能を有する。それ故、ポテンショスタット 1 7 0 7、1 7 0 8 及び 1 7 0 9 の機能は、図 1 6 の回路の対応するポテンショスタットと同じである。

【 0 1 2 9 】

本実施例の核酸検出用センサに回路は、核酸鎖固定化電極毎に参照電極が配置されているので、従来の回路に比べて、測定精度を有する。

【 0 1 3 0 】

従来の回路では、核酸鎖固定化電極に接続された信号線が二本存在するので、複数の核酸鎖固定化電極毎に参照電極を配設すると配線が非常に複雑となり、核酸鎖固定化電極を高密度に配設することは困難乃至は不可能であった。それ故、図 1 7 の回路のように配線数が減少した回路を用いることによって、複数の核酸鎖固定化電極毎に参照電極を配設することが容易又は可能となった。

【 0 1 3 1 】

図 1 7 においては、簡単のために、参照電極は一つしか描かれていないが、実際には、各核酸鎖固定化電極毎に一以上配置されている。

【 0 1 3 2 】

なお、図 1 7 の回路では、走査線に印加される電位で基準電位を兼ねているので、オペアンプ 1 7 0 8 の非反転入力端子から出る配線は、複数の電極に対して共通で用いられており、核酸検出用セル当たりの配線数には含まれない。

【 0 1 3 3 】

以上のように、本実施例の核酸検出用センサは、簡易な配線を有し、且つ非常



に高い測定感度を達成することができる。

【0134】

〔実施例4〕

本実施例では、図を参照しながら、本発明の第六の核酸検出用センサの実施態様について説明する。

【0135】

図18の回路は、図16及び図17の回路と同様に電圧を一定に保つ機能を有する。それ故、ポテンショスタット1807、1808、及び1809の機能の詳細は、実施例2で記載したとおりである。また、信号線及び走査線の機能及び配置などは、第三の核酸検出用センサと同じである。

【0136】

図18の回路も図17の回路と同様に、核酸鎖固定化電極1801毎に参照電極1803が配置されている。それ故、本実施例の核酸検出用センサも向上した測定感度を有する。

【0137】

図18の回路は、図17の回路とは異なり、参照電極1803は、走査線1806ではなく、信号線1804に接続されている。このため、図18の回路は、従来の回路に比べて減少した配線数を有していないが、参照電極1803が、走査線1806に接続されていないので、参照電極の基準電位は、走査線1806の電位と兼ねておらず、印加する電位を自由に設定できる。このため、本実施例の核酸検出用センサでは、実施例3の核酸検出用センサに比べて多種類の挿入剤を使用することができる。

【0138】

図18では、参照電極1803はスイッチング素子1804に接続されているが、該スイッチング素子は省略してもよい。

【0139】

また、図18では、核酸鎖固定化電極1801と参照電極1803がオペアンプ1808の非反転入力端子に接続された導線を挟むように配置されているが、両極が向かい合うように、参照電極1803を核酸鎖固定化電極1801と同じ

側に配置してもよい。

【0140】

以上のように、本実施例の核酸検出用センサは、高い測定感度を達成することができるとともに、多種類の挿入剤を使用することができる。

【0141】

また、前述した如く、本実施例で詳述した回路及び上述したこのような回路の変形例は、本発明の第五の核酸検出用センサに転用できる。

【0142】

【発明の効果】

本発明の第一の核酸検出用センサを用いれば、低減した量の被験液で高精度の測定を迅速に行なうことができる。

【0143】

本発明の第二の核酸検出用センサを用いれば、配線数が減少しているので、単位面積当たりに設置し得る電極が増加する。

【0144】

本発明の第三の核酸検出用センサを用いれば、配線数が減少しているので、単位面積当たりに設置し得る電極が増加し、且つ各核酸鎖固定化電極毎に一以上の対極が配置されているので、共通の対極を有するセンサに比べて、測定感度が向上する。

【0145】

本発明の第四の核酸検出用センサを用いれば、配線数が減少しているので、単位面積当たりに設置し得る電極が増加するのみならず、各核酸鎖固定化電極毎に参照電極が配置されているので、測定感度が向上する。

【0146】

本発明の第五の核酸検出用センサを用いれば、各核酸鎖固定化電極毎に対極が配置されているので、測定感度が向上する。また、対極を接続し得る信号線を備えているので、電気的变化を検出するための挿入剤として多種類の物質を使用することができる。

【0147】

本発明の第六の核酸検出用センサを用いれば、各核酸鎖固定化電極毎に参照電極が配置されているので、測定感度が向上する。また、参照電極を接続し得る信号線を備えているので、電気的变化を検出するための挿入剤として多種類の物質を使用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

複数の電極が配置された本発明の核酸検出用チップの一例を示す模式図。

【図 2】

本発明の核酸検出用チップにおける電極と信号線の配置の一例を示した図。

【図 3】

本発明の核酸検出用チップにおける電極と信号線の配置の他の一例を示した図

【図 4】

本発明の核酸検出用チップにおける電極と信号線の配置の他の一例を示した図

【図 5】

複数の電極が配置された本発明の核酸検出用チップの単位区画の拡大図。

【図 6】

複数の電極が配置された本発明の核酸検出用チップの単位区画の拡大図。

【図 7】

複数の電極が配置された本発明の核酸検出用チップの単位区画の拡大図。

【図 8】

核酸検出用システムに装着可能な核酸検出用チップを示した図。

【図 9】

核酸検出用システムに装着可能な核酸検出用チップを示した図。

【図 1 0】

核酸検出用チップが配置された核酸検出用システムを示した図。

【図 1 1】

容器に収納された本発明の核酸検出用チップを示す図。

【図 1 2】

本発明の核酸検出用チップを装着すべき基板を示す図。

【図 1 3】

容器に収納された本発明の核酸検出用チップを示す図。

【図 1 4】

電極が対向した位置に配置されている本発明の核酸検出用チップと電極が対向した位置に配置されていない従来の核酸検出用チップとを比較した図。

【図 1 5】

核酸検出用チップに使用されている従来の回路を示す図。

【図 1 6】

本発明の核酸検出用チップに使用し得る配線数が減少した回路の一例を示す図。

【図 1 7】

本発明の核酸検出用チップに使用し得る配線数が減少した回路の他の一例を示す図。

【図 1 8】

本発明の核酸検出用チップに使用し得る配線数が減少した回路の他の一例を示す図。

【図 1 9】

電極が対向した位置に配置された本発明の核酸検出用チップの構成を示した図。

【図 2 0】

電極が対向した位置に配置された本発明の核酸検出用チップにおける配線を示した図。

【図 2 1】

各单位区画毎に電圧を印加するための信号及び出力信号を示した図。

【図 2 2】

電極が対向した位置に配置された本発明の核酸検出用チップにおける配線を示した図。

【符号の説明】

- 1 0 1 核酸鎖固定化電極
- 1 0 2 対極（参照電極）
- 1 0 3 スイッチング素子
- 1 0 4 走査線
- 1 0 5 信号線
- 1 0 6 タイミング回路
- 1 0 7 走査線駆動回路
- 1 0 8 信号線駆動回路
- 1 0 9 信号検出回路
- 1 1 0 ポテンショスタット回路
- 2 0 1 絶縁基板
- 2 0 2 スイッチング素子
- 2 0 3 絶縁膜
- 2 0 4 核酸鎖固定化電極
- 2 0 5 対向電極
- 3 0 1 絶縁基板
- 3 0 2 核酸鎖固定化電極
- 3 0 3 対極（参照電極）
- 3 0 4 スイッチング素子
- 3 0 5 スイッチング素子
- 3 0 6 絶縁膜
- 3 0 7 絶縁膜
- 3 0 8 絶縁膜
- 4 0 1 核酸鎖固定化電極
- 4 0 2 対極（参照電極）
- 4 0 3 スイッチング素子
- 4 0 4 スイッチング素子
- 4 0 5 絶縁膜

- 4 0 6 絶縁膜
- 4 0 7 絶縁膜
- 5 0 1 核酸鎖固定化電極
- 5 0 2 対極（参照電極）
- 5 0 3 スイッチング素子
- 5 0 4 走査線
- 5 0 5 信号線
- 6 0 1 核酸鎖固定化電極
- 6 0 2 対極（参照電極）
- 6 0 3 スイッチング素子
- 6 0 4 走査線
- 6 0 5 信号線
- 7 0 1 核酸鎖固定化電極
- 7 0 2 対極（参照電極）
- 7 0 3 スイッチング素子
- 7 0 4 走査線
- 7 0 5 信号線
- 8 0 1 走査線
- 8 0 2 信号線
- 8 0 3 スイッチング素子
- 8 0 4 核酸鎖固定化電極
- 8 0 5 走査線駆動回路
- 8 0 6 信号線駆動回路
- 8 0 7 第一の基板
- 8 0 8 対極
- 8 0 9 第二の基板
- 8 1 0 パッド
- 8 1 1 核酸検知部
- 8 1 2 核酸検出用アレイ

- 9 0 1 走査線
- 9 0 2 信号線
- 9 0 3 スイッチング素子
- 9 0 4 核酸鎖固定化電極
- 9 0 5 参照電極
- 9 0 6 走査線駆動回路
- 9 0 7 信号線駆動回路
- 9 0 8 第一の基板
- 9 0 9 パッド
- 9 1 0 核酸検知部
- 1 0 0 1 核酸検出用チップ
- 1 0 0 2 核酸検出用チップ固定装置
- 1 0 0 3 電気信号測定装置
- 1 0 0 4 C P U
- 1 0 0 5 電源
- 1 0 0 6 表示装置
- 1 0 0 7 核酸検出用システム
- 1 1 0 1 接続端子
- 1 1 0 2 基板
- 1 1 0 3 液体試料
- 1 1 0 4 核酸検出用チップ
- 1 1 0 5 試料注入口
- 1 1 0 6 試料排出口
- 1 1 0 7 空気穴
- 1 1 0 8 容器
- 1 2 0 1 接続端子挿入部
- 1 3 0 1 接続端子
- 1 3 0 2 基板
- 1 3 0 3 液体試料

- 1 3 0 4 核酸鎖固定化電極
- 1 3 0 5 試料注入口
- 1 3 0 6 試料排出口
- 1 3 0 7 空気穴
- 1 3 0 8 容器
- 1 4 0 1 核酸鎖固定化電極
- 1 4 0 2 核酸鎖
- 1 4 0 3 第一の基板
- 1 4 0 4 対極
- 1 4 0 5 第二の基板
- 1 4 0 6 試料
- 1 4 0 7 参照電極
- 1 5 0 1 核酸鎖固定化電極
- 1 5 0 2 対極
- 1 5 0 3 参照電極
- 1 5 0 4 スイッチング素子
- 1 5 0 5 信号線
- 1 5 0 6 信号線
- 1 5 0 7 走査線
- 1 5 0 8 オペアンプ
- 1 5 0 9 抵抗
- 1 6 0 1 核酸鎖固定化電極
- 1 6 0 2 対極
- 1 6 0 3 参照電極
- 1 6 0 4 スイッチング素子
- 1 6 0 5 信号線
- 1 6 0 6 走査線
- 1 6 0 7 オペアンプ
- 1 6 0 8 オペアンプ



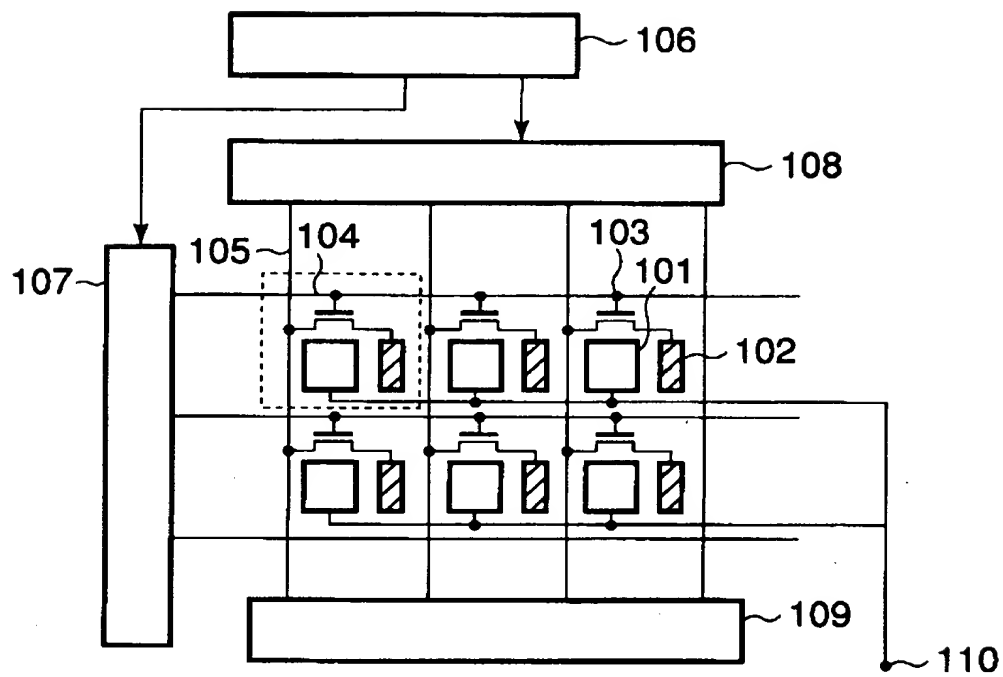
1 6 0 9 オペアンプ  
 1 6 1 0 抵抗  
 1 7 0 1 核酸鎖固定化電極  
 1 7 0 2 対極  
 1 7 0 3 参照電極  
 1 7 0 4 スイッチング素子  
 1 7 0 5 信号線  
 1 7 0 6 走査線  
 1 7 0 7 オペアンプ  
 1 7 0 8 オペアンプ  
 1 7 0 9 オペアンプ  
 1 7 1 0 抵抗  
 1 8 0 1 核酸鎖固定化電極  
 1 8 0 2 対極  
 1 8 0 3 参照電極  
 1 8 0 4 スイッチング素子  
 1 8 0 5 信号線  
 1 8 0 6 走査線  
 1 8 0 7 オペアンプ  
 1 8 0 8 オペアンプ  
 1 8 0 9 オペアンプ  
 1 8 1 0 抵抗  
 1 9 0 1 核酸鎖固定化電極  
 1 9 0 2 スイッチング素子  
 1 9 0 3 信号線  
 1 9 0 4 アンプ  
 1 9 0 5 A/Dコンバーター  
 1 9 0 6 走査線  
 1 9 0 7 Xデコーダ

1 9 0 8 カウンタ  
1 9 0 9 パルス発生器  
2 0 0 1 核酸鎖固定化電極  
2 0 0 2 アンプ  
2 0 0 3 電極スイッチング素子  
2 0 0 4 信号線  
2 0 0 5 信号線スイッチング素子  
2 0 0 6 A / D コンバーター  
2 0 0 7 X デコーダ  
2 0 0 8 カウンタ  
2 0 0 9 Y デコーダ  
2 0 1 0 カウンタ  
2 0 1 1 タイミングパルス発生器  
2 2 0 1 核酸鎖固定化電極  
2 2 0 2 アンプ  
2 2 0 3 スwitching 素子  
2 2 0 4 信号線  
2 2 0 5 スwitching 素子  
2 2 0 6 A / D コンバーター  
2 2 0 7 X デコーダ  
2 2 0 8 カウンタ  
2 2 0 9 タイミング発生器  
2 2 1 0 Y シフトレジスタ

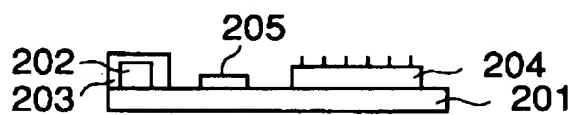
【書類名】

図面

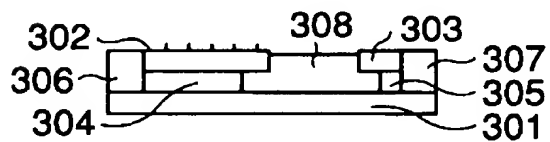
【図 1】



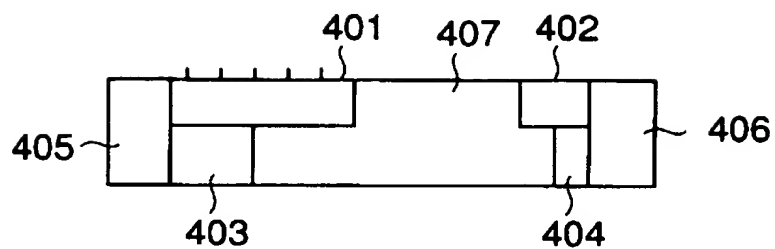
【図 2】



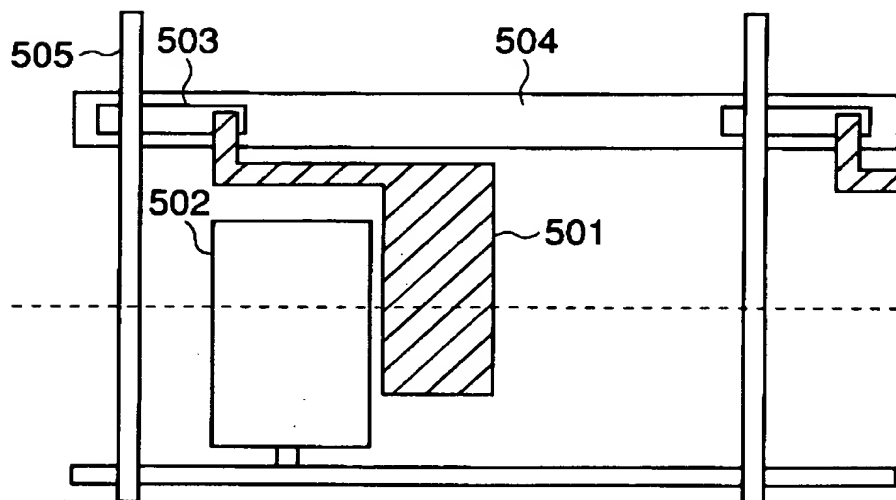
【図 3】



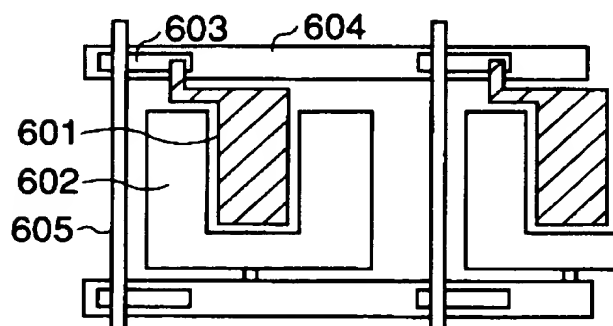
【図 4】



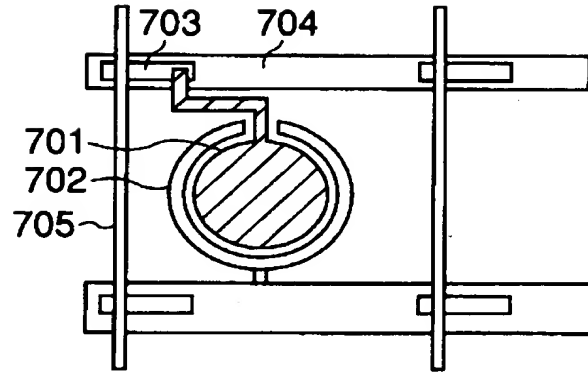
【図 5】



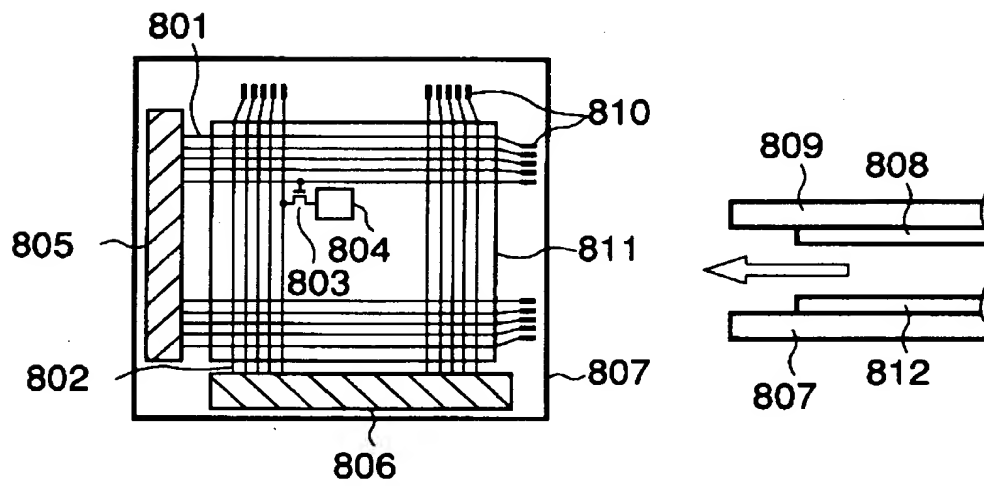
【図 6】



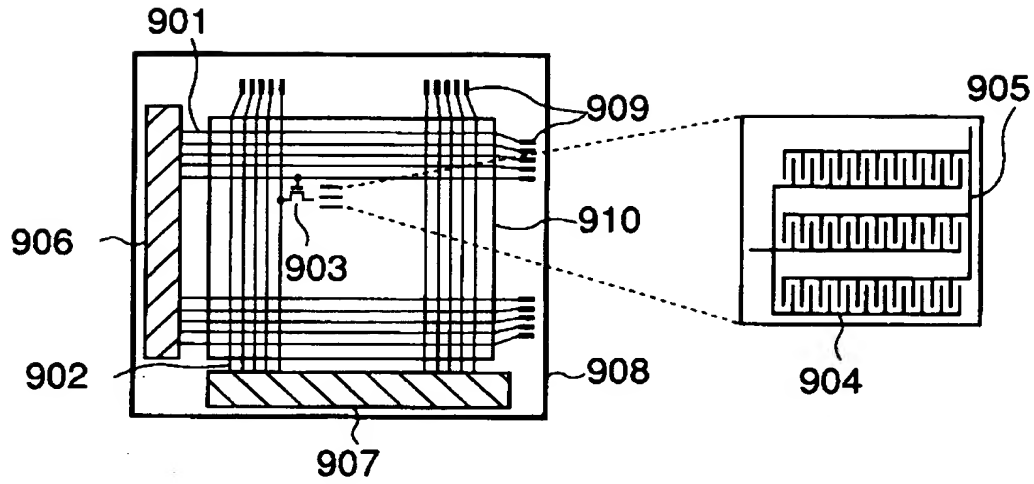
【図 7】



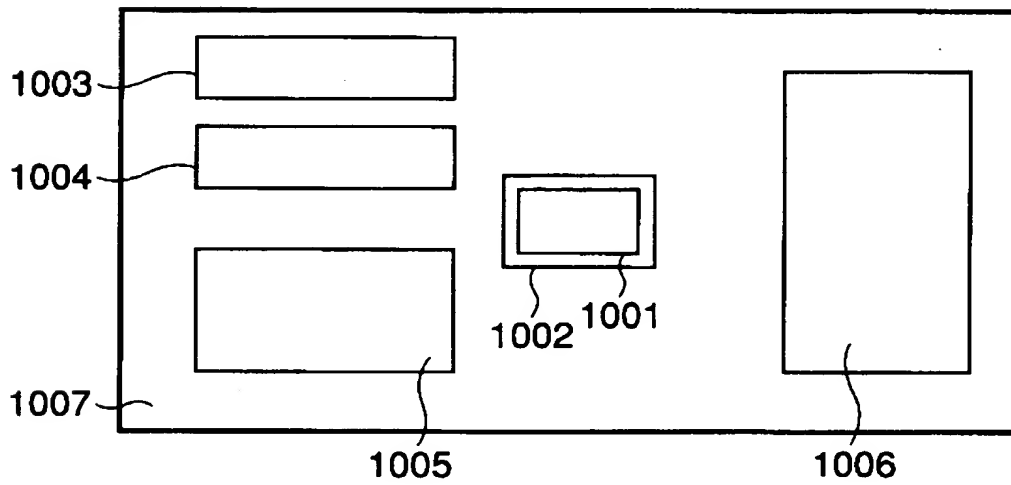
【図 8】



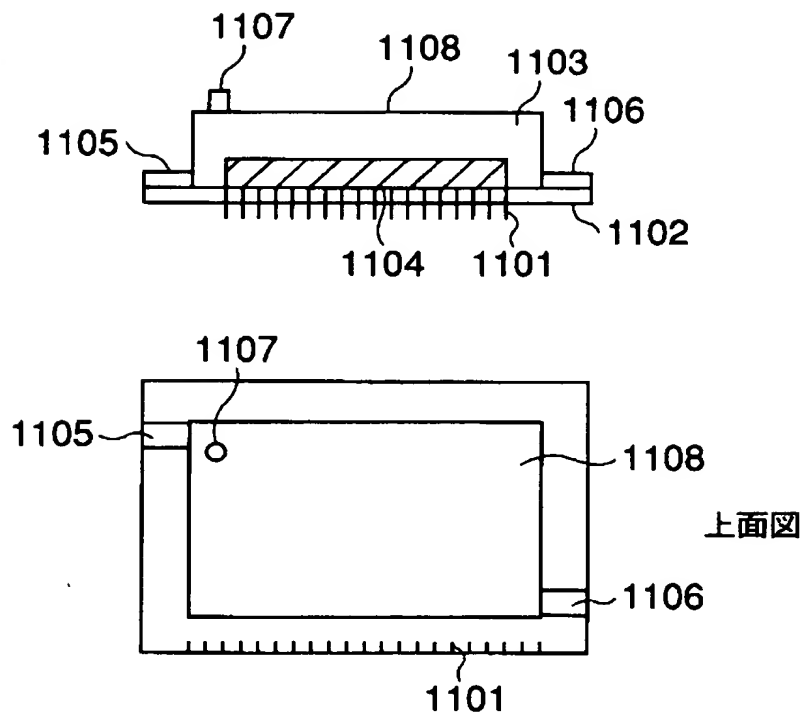
【図 9】



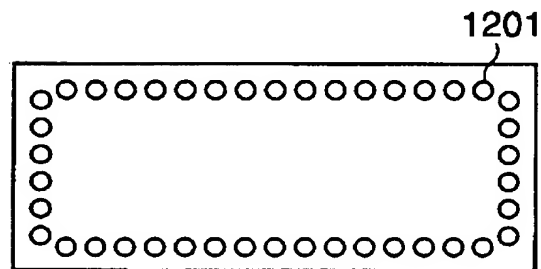
【図 1 0】



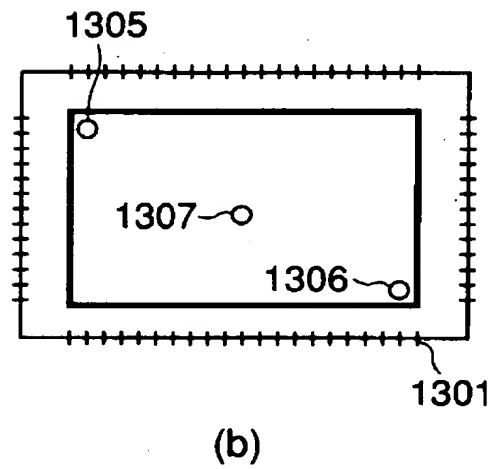
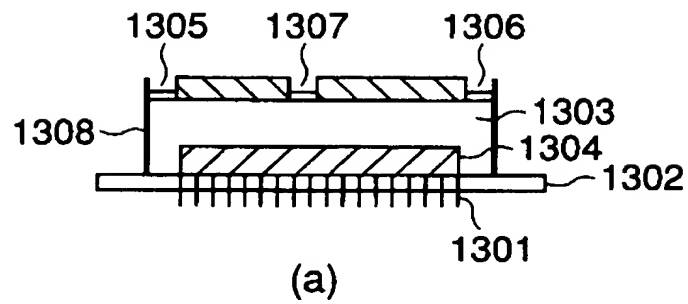
【図 1 1】



【図 1 2】

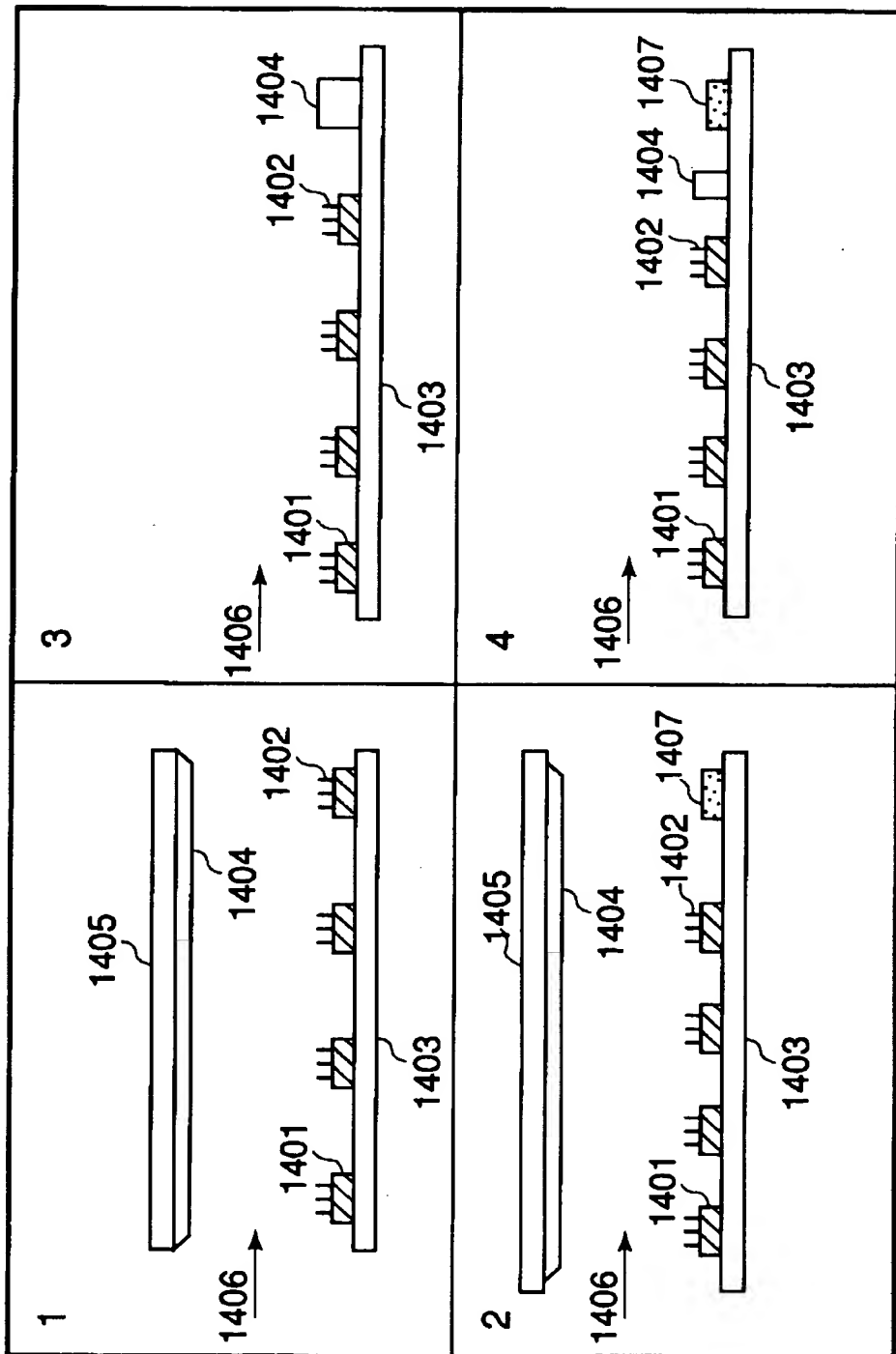


【図 1 3】

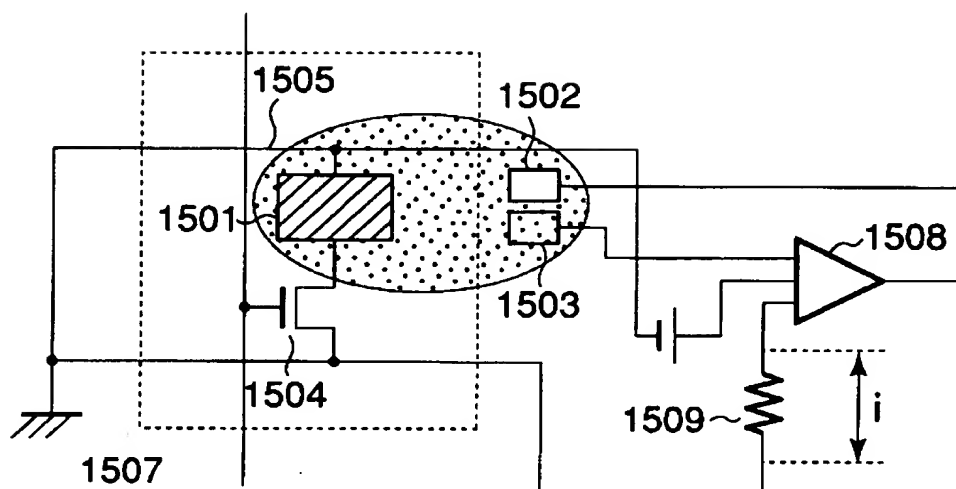




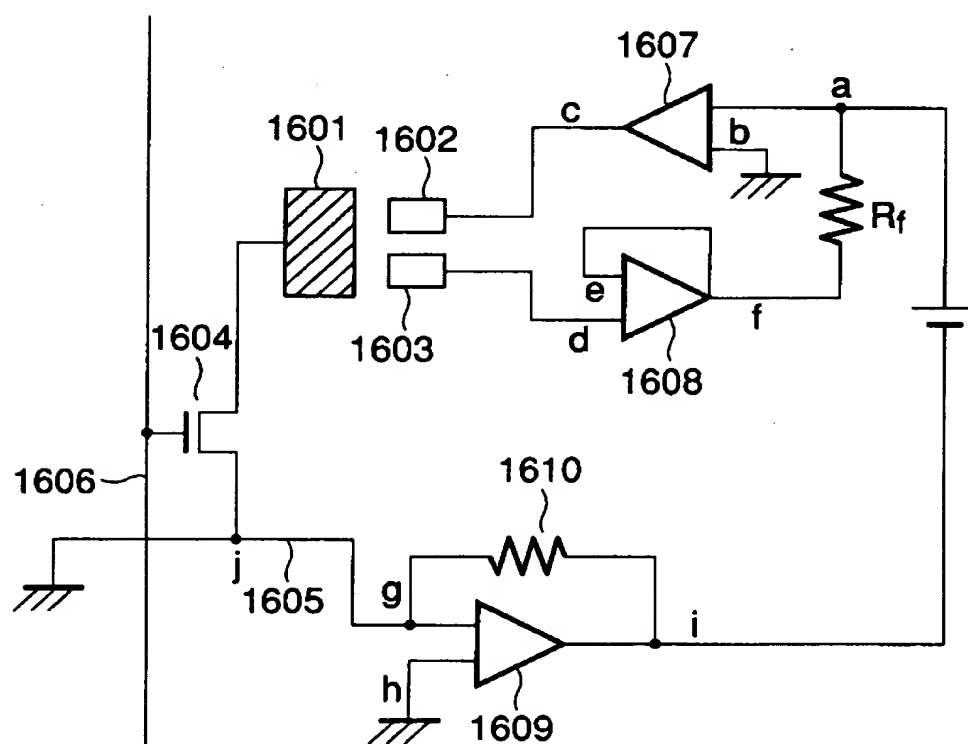
【図 1 4】



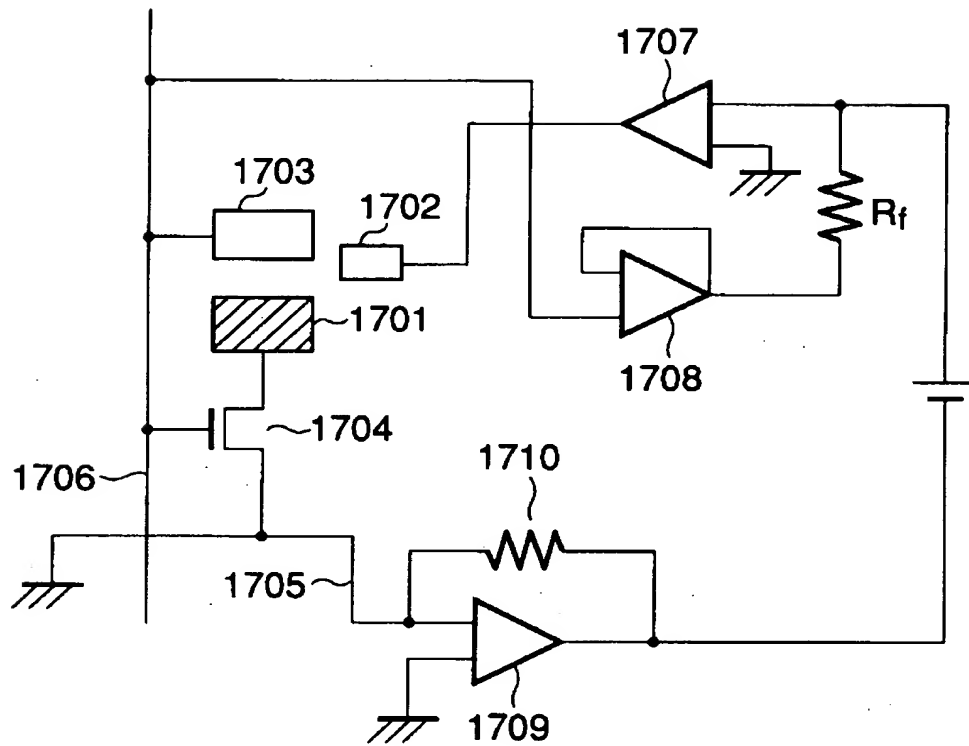
【図 15】



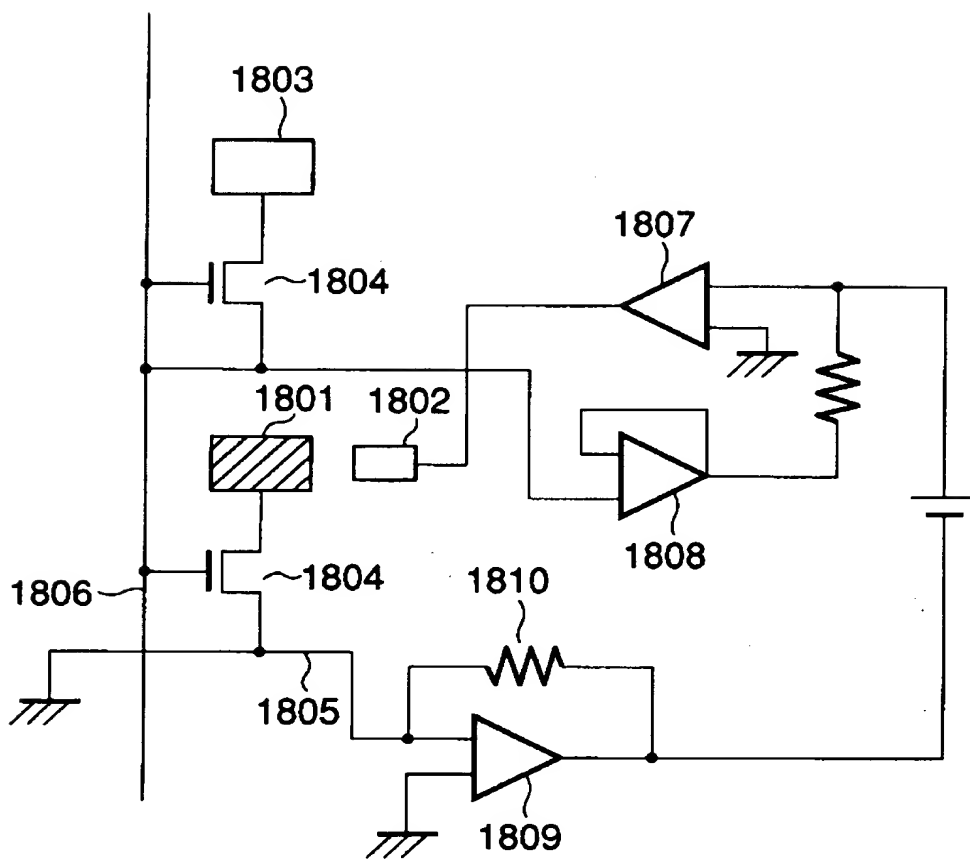
【図 16】



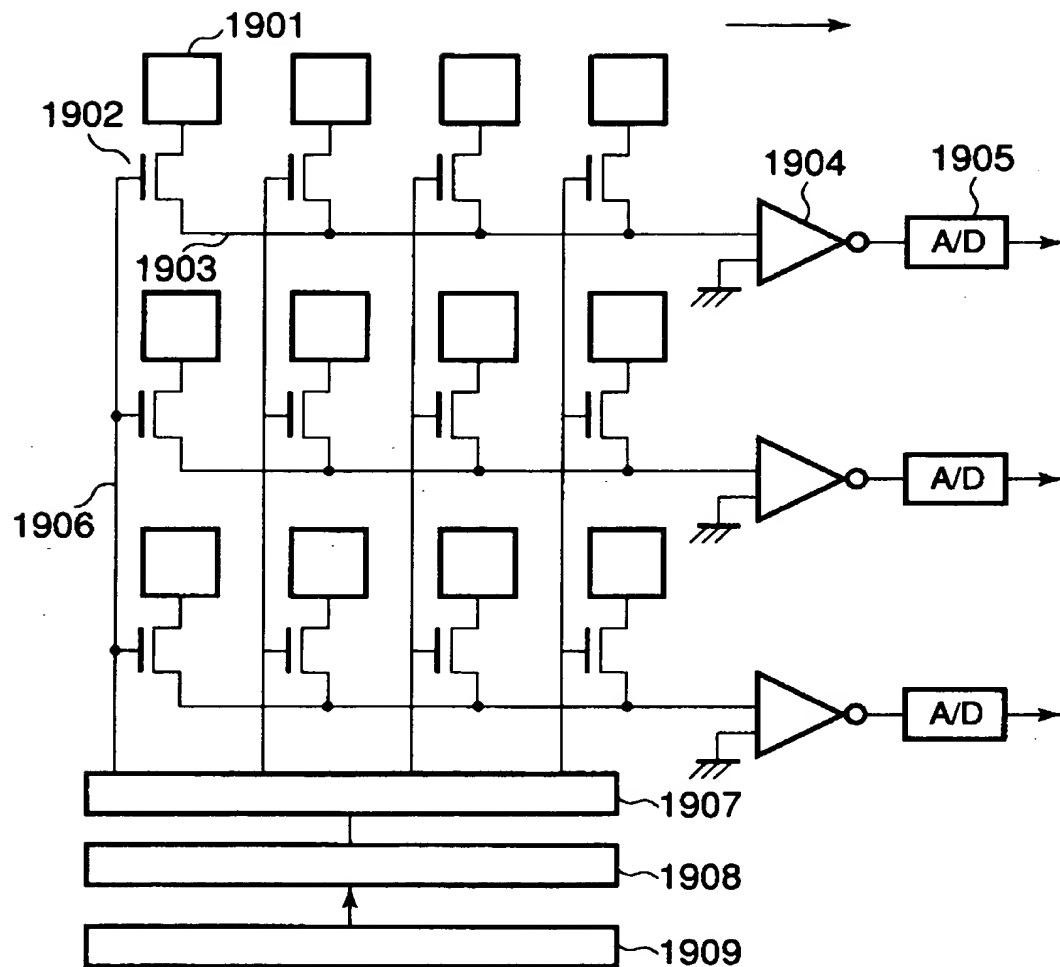
【図 1 7】



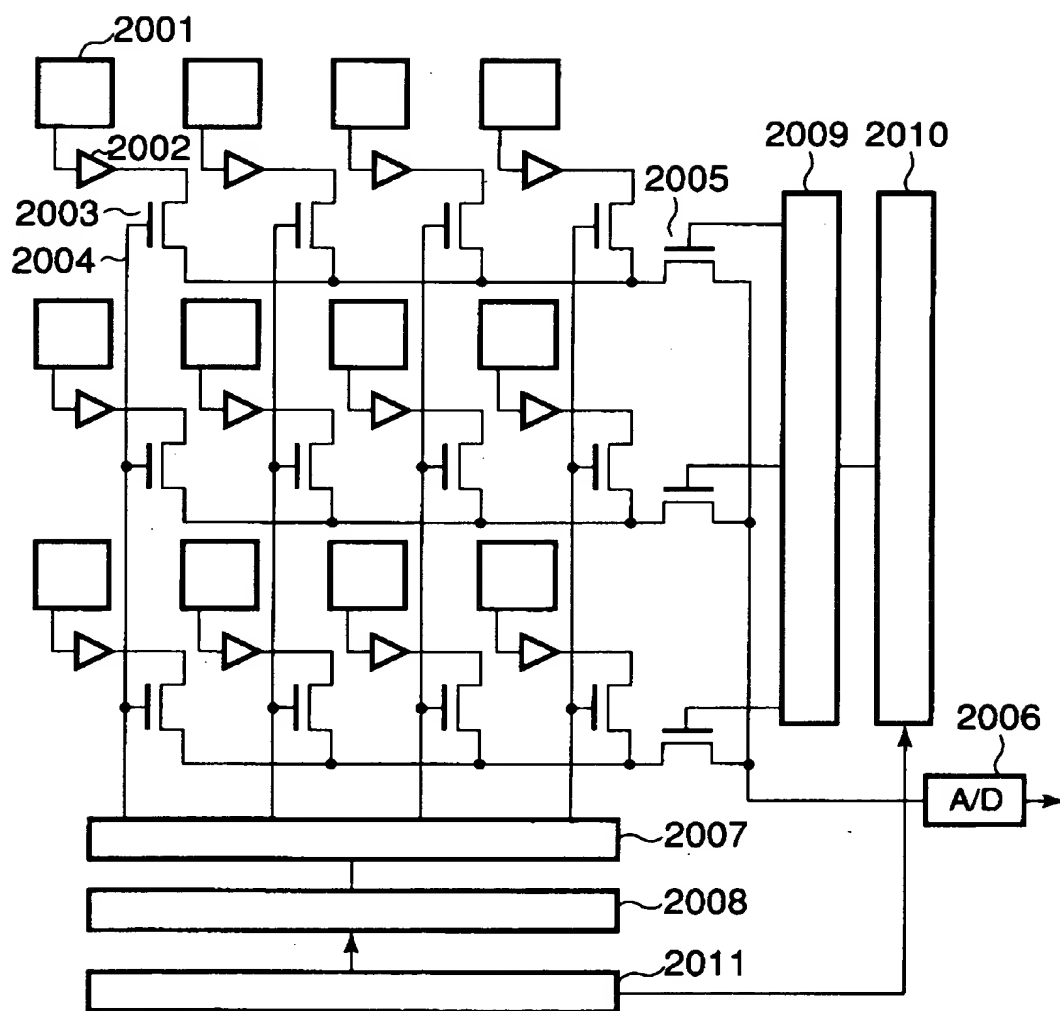
【図 1 8】



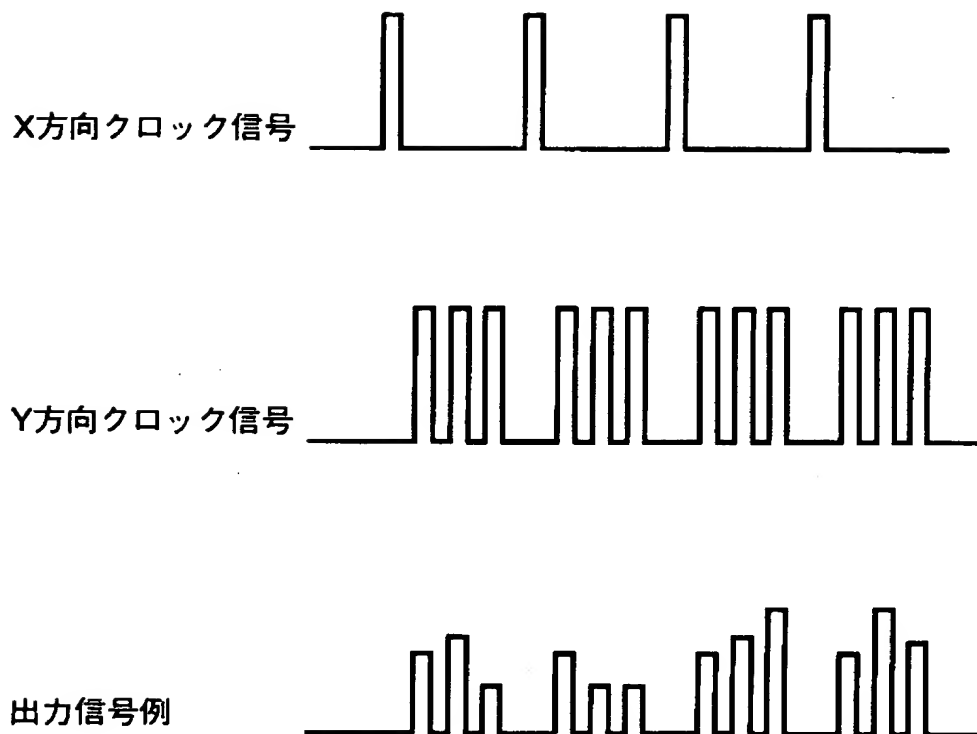
【図 1 9】



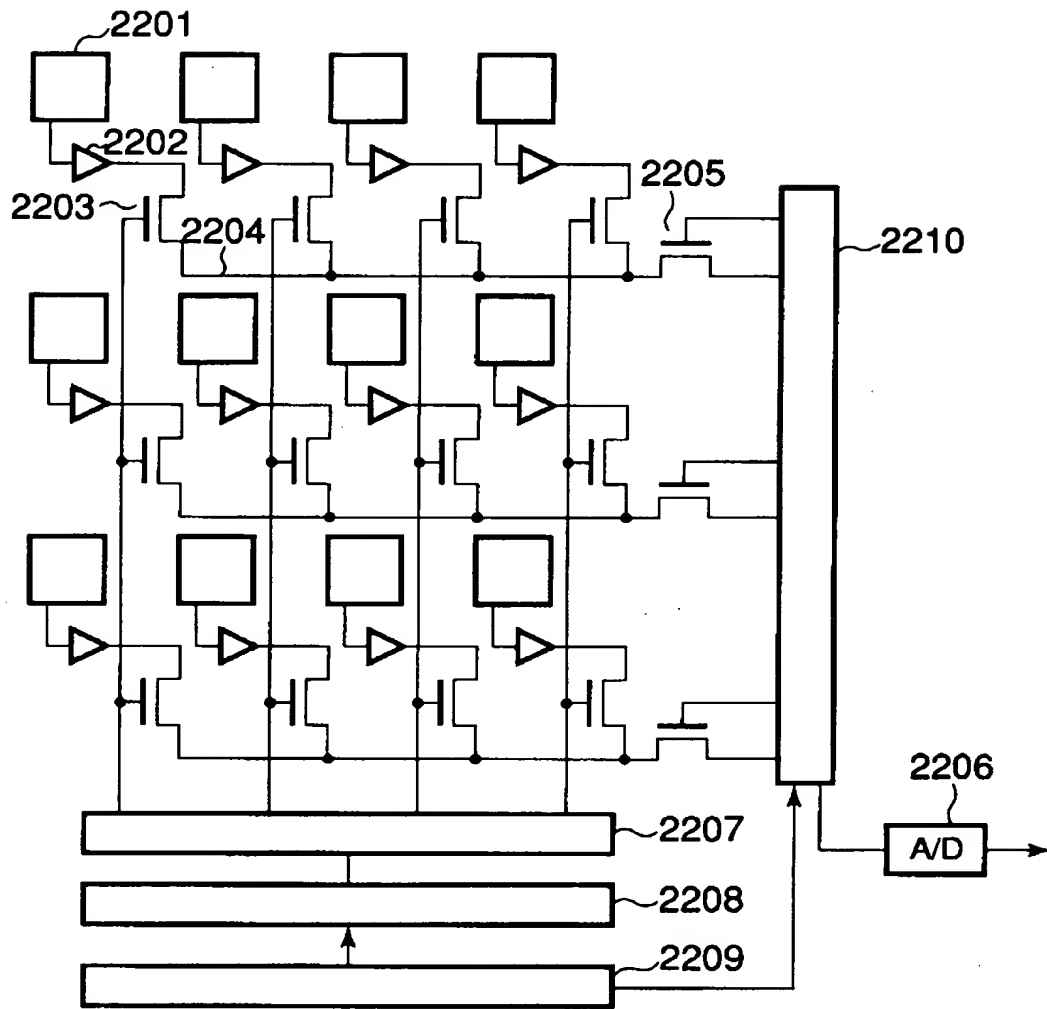
【図 2 0】



【図 2 1】



【図 2 2】





【書類名】                    要約書

【要約】

【課題】    本発明は、多種類の核酸を高速、且つ高精度に検出することができる核酸検出用センサを提供することを目的とする。

【解決手段】    本発明は、プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備えた核酸検出用センサであって、前記核酸鎖固定化電極と対極とが対向位置に配置されていることを特徴とする核酸検出用センサを提供する。

さらに、本発明は、プローブ核酸鎖が固定化された核酸鎖固定化電極と、対極とを備える核酸検出用セルを複数備えた核酸検出用センサであって、

一つの核酸鎖固定化電極に接続された信号線が一本であり、減少した配線を有することを特徴とする核酸検出用センサも提供する。

【選択図】            図 1 4

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003078]

1. 変更年月日 1990年 8月22日

[変更理由] 新規登録

住 所 神奈川県川崎市幸区堀川町72番地

氏 名 株式会社東芝